

INAUGURAL – DISSERTATION

**Die Synthese von radiomarkierten Silizium-Rhodaminen
als Fluoreszenzfarbstoffe für die bimodale molekulare und
optische Bildgebung**

Zur Erlangung der Doktorwürde
der Gesamtfakultät für Mathematik, Ingenieur- und
Naturwissenschaften der
Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg

vorgelegt von
Thines Kanagasundaram, M. Sc. Chemie
aus Bad Schönborn

INAUGURAL – DISSERTATION

Zur Erlangung der Doktorwürde
der Gesamtfakultät für Mathematik, Ingenieur- und
Naturwissenschaften der
Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg

vorgelegt von
Thines Kanagasundaram, M. Sc. Chemie
aus Bad Schönborn

Tag der mündlichen Prüfung: 22.04.2022

**Die Synthese von radiomarkierten Silizium-Rhodaminen
als Fluoreszenzfarbstoffe für die bimodale molekulare und
optische Bildgebung**

Gutachter:

1. Prof. Dr. Peter Comba
2. Prof. Dr. Klaus Kopka (TU Dresden/HZDR)

“All truths are easy to understand once they are discovered; the point is to discover them.”

Galileo Galilei (1564–1642)

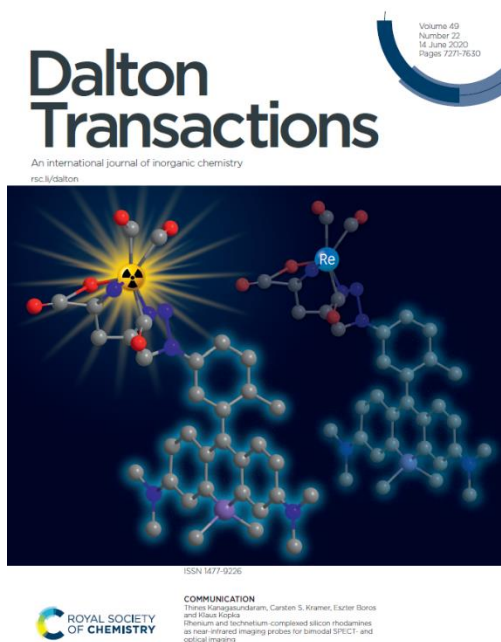
Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Juni 2018 bis Januar 2022, unter der Betreuung von Prof. Dr. Klaus Kopka und Prof. Dr. Peter Comba, in der Abteilung der Radiopharmazeutischen Chemie am Deutschen Krebsforschungszentrum in Heidelberg (DKFZ) sowie im Institut für Radiopharmazeutische Krebsforschung am Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf (HZDR) in Dresden angefertigt. Ein Auszug dieser Arbeit wurde von Antje Timmermann zwischen Juli und August 2018 im Rahmen ihrer Bachelorarbeit im Arbeitskreis von Prof. Kopka am Deutschen Krebsforschungszentrum in Heidelberg, unter meiner Betreuung, angefertigt.

Unter der zusätzlichen Betreuung von Assist. Prof. Dr. Eszter Boros wurden Teile der Arbeit von Mai 2019 bis August 2019 an der Fakultät für Anorganische Chemie an der State University of New York in Stony Brook (SUNY) in den Vereinigten Staaten von Amerika angefertigt.

Auszüge dieser Arbeit wurden bereits in wissenschaftlichen Fachzeitschriften und anlässlich von Konferenzen in Form von mündlichen Vorträgen oder Posterbeiträgen veröffentlicht:

Publikationen:

- I. T. Kanagasundaram, A. Timmermann, C. S. Kramer, K. Kopka. New approach to silicon rhodamines by Suzuki–Miyaura coupling – scope and limitations, *Beilstein J. Org. Chem.* **2019**, *15*, 2569–2576.
- II. T. Kanagasundaram, C. S. Kramer, E. Boros, K. Kopka. Rhenium and technetium-complexed silicon rhodamines as near-infrared imaging probes for bimodal SPECT- and optical imaging, *Dalton Trans.* **2020**, *49*, 7294–7298 (mit *inside front cover*).



- III. T. Kanagasundaram, M. Laube, J. Wodtke, C. S. Kramer, S. Stadlbauer, J. Pietzsch, K. Kopka (2021). Radiolabeled Silicon-Rhodamines as Bimodal PET/SPECT-NIR Imaging Agents, *Pharmaceuticals* **2021**, *14*, 1155.

Publikationen, an denen während der Dissertation mitgewirkt wurde:

- IV. J. Matthias, T. Kanagasundaram, K. Kopka, C. S. Kramer. Synthesis of a di-halogenated pyridinyl silicon rhodamine for mitochondrial imaging by a halogen dance rearrangement, *Beilstein J. Org. Chem.* **2019**, *15*, 2333–2343.
- V. J. Pfister, A. Lichius, D. Summer, H. Haas, T. Kanagasundaram, K. Kopka, C. Decristoforo. Live-cell imaging with *Aspergillus fumigatus*-specific fluorescent siderophore conjugates, *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 15519.

Vorträge auf Konferenzen:

- VI. T. Kanagasundaram, C. S. Kramer, E. Boros, K. Kopka, Synthesis of radiolabeled Si-rhodamines for bimodal imaging, 27. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft Radiochemie/Radiopharmazie der Deutschen Gesellschaft für Nuklearmedizin (AGRR), 12.–14. September 2019, Pamhagen, Österreich.
- VII. T. Kanagasundaram, M. Schäfer, C. S. Kramer, E. Boros, K. Kopka, Novel radiolabeled silicon dyes for bimodal scintigraphic and optical imaging, 32nd Annual Congress of the European Association of Nuclear Medicine (EANM), 12.–16. Oktober 2019, Barcelona, Spanien.
- VIII. T. Kanagasundaram, M. Laube, C. S. Kramer, S. Stadlbauer, J. Pietzsch, K. Kopka, The radiofluorination of silicon-rhodamines for bimodal PET and NIR-optical imaging [PET/OI], Nuklear Medizin 2021 – digital, 59. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Nuklearmedizin (DGN), 14.–17. April 2021.
- IX. T. Kanagasundaram, M. Laube, C. S. Kramer, S. Stadlbauer, J. Pietzsch, K. Kopka, The radiolabeling of silicon-rhodamines for multimodal PET/SPECT- and NIR optical imaging, eSRS 2021 – Virtual Meeting of the Society of Radiopharmaceutical Sciences (SRS), 17.–19. Mai 2021.

Posterbeiträge auf Konferenzen:

- X. C. S. Kramer, T. Kanagasundaram, K. Kopka, Development of bi-modal (PET/NIR) tumor tracers for non-invasive staging and fluorescence-guided surgery of prostate cancer, NuklearMedizin 2019, 57. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Nuklearmedizin (DGN), 03.–06. April 2019, Messe Bremen.
- XI. C. S. Kramer, T. Kanagasundaram, K. Kopka, Development of bi-modal (PET/NIR) tumor tracers for non-invasive staging and fluorescence guided surgery of prostate cancer, 23rd International Symposium on Radiopharmaceutical Sciences (ISRS), 26.–31. Mai 2019, Peking, China.
- XII. C. S. Kramer, T. Kanagasundaram, K. Kopka, Development of a bimodal (PET/NIR) tumor tracer for non-invasive staging and fluorescence guided surgery of prostate cancer, 32nd Annual Congress of the European Association of Nuclear Medicine (EANM), 12.–16. Oktober 2019, Barcelona, Spanien.
- XIII. T. Kanagasundaram, C. S. Kramer, E. Boros, K. Kopka, Novel radiolabeled silicon rhodamine dyes for bimodal scintigraphic and optical imaging, 5th International Electronic Conference on Medicinal Chemistry (5-ECMD), 1.–30. November 2019.

- XIV. T. Kanagasundaram, M. Laube, S. Stadlbauer, C. S. Kramer, J. Pietzsch, K. Kopka, Novel radiofluorinated silicon rhodamines for bimodal PET and NIR-optical imaging, *33rd Annual Congress of the European Association of Nuclear Medicine (EANM'20, virtual)*, 22.–30. Oktober 2020.
- XV. T. Kanagasundaram, M. Laube, S. Stadlbauer, C. S. Kramer, J. Pietzsch, K. Kopka, Novel radiofluorinated silicon rhodamines for bimodal PET and NIR-optical imaging, *Jährliche Posterpräsentation der Internationalen Helmholtz-Graduiertenschule für Krebsforschung am Deutschen Krebsforschungszentrum*, 16.–20. Oktober 2020, Heidelberg, Deutschland.
- XVI. T. Kanagasundaram, M. Laube, R. Wodtke, S. Stadlbauer, J. Pietzsch, K. Kopka, The bioconjugation of a radioiodinated silicon rhodamine as multimodal imaging probe for SPECT and NIR imaging, *24th International Symposium on Radiopharmaceutical Sciences (ISRS)*, 29. Mai–2. Juni 2022, Nantes, Frankreich.

Abstract

Nowadays radiolabeled fluorescent dyes are in emerging demand as multimodal imaging probes (e.g. PET/OI or SPECT/OI) for the treatment of oncological diseases. For this reason the multimodal imaging agents show high potential for clinical applications. The imaging probes are intended to be used for preoperative planning (pre staging) using PET or SPECT imaging to accurately differentiate between healthy and affected tissues. The subsequent fluorescence-guided intraoperative surgery is a powerful tool to precisely resect R0 tumor tissue.

In the present work several novel near-infrared (NIR) absorbing and emitting fluorophores suitable for bimodal PET/SPECT and optical imaging were developed. So far, radiolabeled Si-rhodamines are unknown.

The non-radioactive dyes and precursors belonging to the silicon-rhodamine family were accomplished over multistep organic synthesis and were entirely characterized. Additionally the photophysical properties of the Si-rhodamines in aqueous solution were compared to clinically approved dyes (e.g. indocyanine green or protoporphyrin IX) to ensure the required properties for fluorescence-guided surgery. Hereby, the non-radioactive fluorescent dyes showed quantum yields of up to 10% in aqueous solution and high photostability after irradiation with NIR light.

In radiolabeling experiments the Si-rhodamines were labeled with the most clinically used radionuclides: technetium-99m and iodine-123 as representatives for SPECT imaging and fluorine-18 as a positron emitting radionuclide for PET imaging. The labeling of the Si-rhodamine backbone with technetium-99m showed a radiochemical yield of 59% and a partition coefficient of $\log D_{\text{pH}=7.4}=1.11$ from the isolated complex **78**. The tremendous *in vitro* stability of the non-radioactive rhenium complex **77** and the technetium-99m complex **78** in challenging experiments with *L*-histidine in phosphate-buffered solution or human serum makes the complex capable for *in vivo* experiments as well.

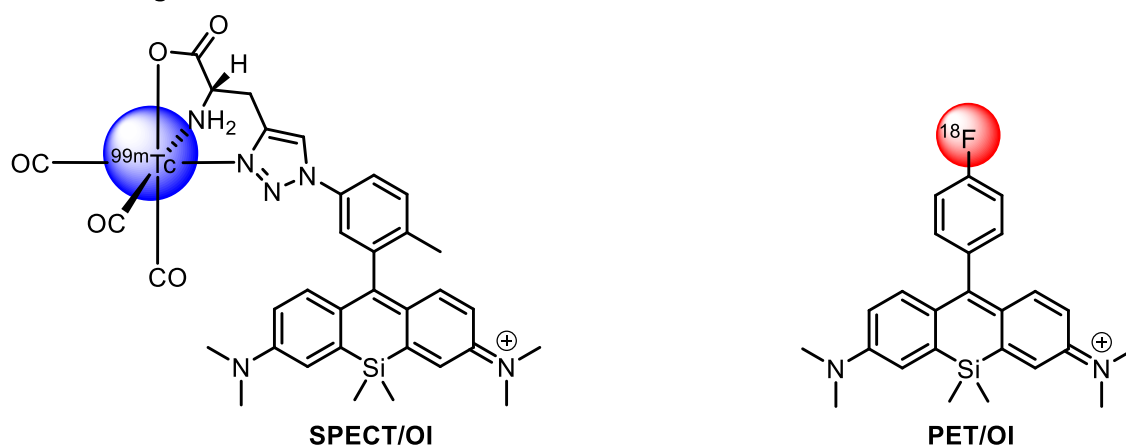
After intensive optimization the radiolabeling of the Si-rhodamine scaffold with fluorine-18 resulted in radiochemical yields of up to 54%. Moreover, the radiofluorinated Si-rhodamines showed stabilities greater than 74% in human serum after two hours. In addition, the cationic and lipophilic non-radioactive Si-rhodamines illustrated significant uptake in mitochondria of PC3-cells making these dyes suitable as perfusion imaging agents for bimodal PET- and optical imaging.

As an superior advantage the precursor used for radiofluorination can also be used for radioiodination with iodine-123. The radioiodinated Si-rhodamine was obtained with a radiochemical yield of 54% and shows to date the highest molar activity for NIR dyes determined as 7.64 TBq/ μmol .

Moreover, the SPECT-compatible Si-rhodamine was conjugated to different tumor targeting vectors, e.g. the PSMA-1007 binding motif. Subsequently the *in vitro* affinity of the non-radioactive PSMA-1007 conjugated Si-rhodamine to LNCaP cancer cells was evaluated. In addition, the *in vivo* performance of the non-radioactive conjugate in prostate tumor-bearing mice was carefully analyzed.

The first-in-class fluorescent dye family reported here illustrate the first radiolabeled Si-rhodamines showing promising properties for multimodal imaging approaches.

Radiolabeling of the Si-rhodamines with technetium-99m and fluorine-18



Radiolabeling of the Si-rhodamines with iodine-123

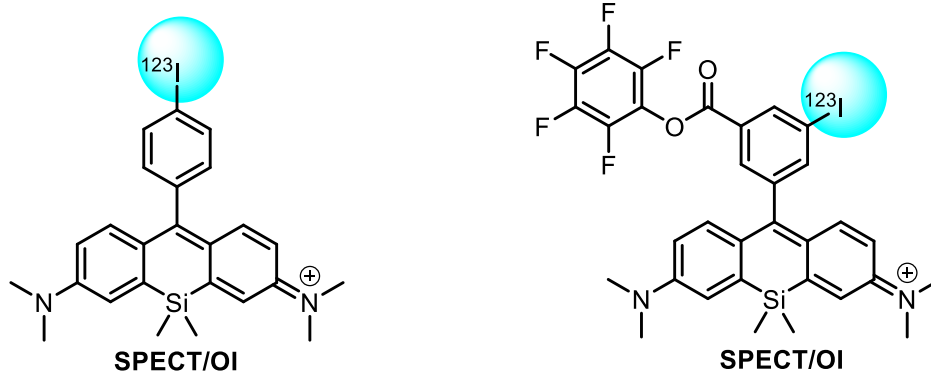


Figure 1: An overview of several Si-rhodamines radiolabeled with the clinically relevant radionuclides technetium-99m, fluorine-18 and iodine-123 highlighted in this work for their potential applications in bimodal molecular (PET, SPECT) and optical imaging (OI).

Kurzzusammenfassung

Radiomarkierte Fluoreszenzfarbstoffe erfahren aktuell eine stetig wachsende Nachfrage als Medikamente für die multimodale Bildgebung (z.B. PET/OI oder SPECT/OI) und Behandlung von Krebs. Sie versprechen somit ein hohes Potential für klinische Anwendungen. Die radiomarkierten Farbstoffe können zur präoperativen Planung (Prestaging) durch Zuhilfenahme der PET/SPECT-Bildgebung zur präzisen Differenzierung zwischen gesundem Gewebe und Tumorgewebe eingesetzt werden. Die anschließende Fluoreszenz-gestützte intraoperative Chirurgie ist eine äußerst effiziente Methode zur akkuraten R0-Tumorentfernung.

In der vorliegenden Arbeit wurden neuartige Nahinfrarot(NIR) absorbierende und emittierende Farbstoffe hergestellt, welche für die bimodale PET/SPECT- und optische Bildgebung geeignet sind. Bisher wurden in der Literatur noch nicht über radiomarkierte Si-Rhodamine berichtet.

Die nicht-radioaktiven Farbstoffe, welche zur Familie der Si-Rhodamine gehören, wurden über mehrere organische Syntheseschritte erhalten und anschließend vollständig charakterisiert. Außerdem wurden die photophysikalischen Eigenschaften der Si-Rhodamine in wässriger Lösung mit klinisch zugelassenen Farbstoffen (z.B. Indocyaningrün oder Protoporphyrin IX) verglichen, um die erforderlichen Voraussetzungen für die Fluoreszenz-gestützte Chirurgie zu gewährleisten. Dabei zeigen die nicht-radioaktiven Fluoreszenzfarbstoffe im wässrigen Medium Quantenausbeuten bis zu 10% und hohe Photostabilitäten nach Bestrahlung mit NIR-Licht.

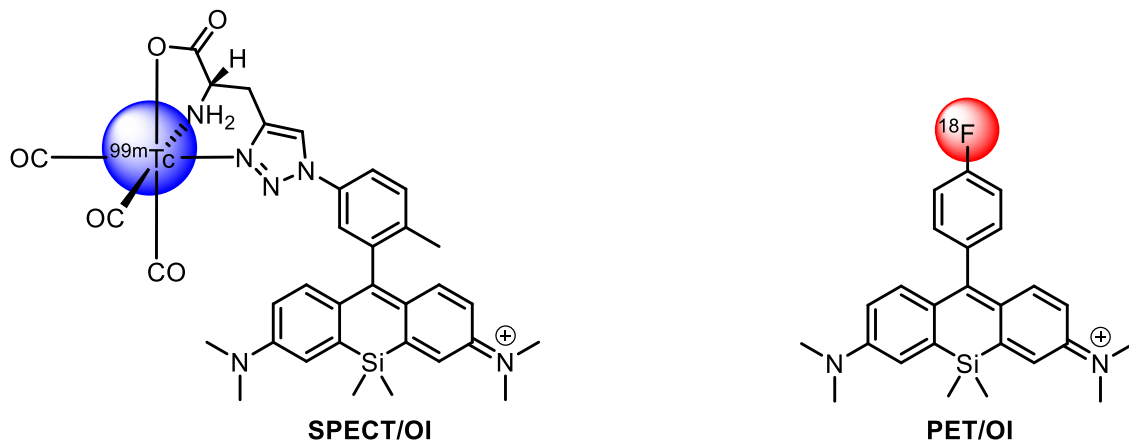
In radiochemischen Experimenten wurden die Si-Rhodamine mit den am häufigsten genutzten klinischen Radionukliden Technetium-99m und Iod-123 für die SPECT-Bildgebung und mit Fluor-18 als Positronenemitter für die PET-Bildgebung markiert.

So zeigte die Radiomarkierung des Si-Rhodamin-Grundgerüsts mit Technetium-99m eine radiochemische Ausbeute von 59% mit einem Verteilungskoeffizienten von $\log D_{\text{pH}=7.4}=1.11$ des isolierten Komplexes **78**. Die ausgezeichnete *in vitro* Stabilität des nicht-radioaktiven Rhenium-Komplexes **77** und des Technetium-Komplexes **78** in Dekomplexierungsexperimenten mit *L*-Histidin in phosphatgepufferter Salzlösung oder humanem Serum zeigen vielversprechende Resultate der Metallkomplexe für *in vivo* Experimente.

Nach ausführlicher Optimierung der Radiomarkierungsexperimente am Si-Rhodamin mit Fluor-18 wurden radiochemische Ausbeuten von bis zu 54% erhalten. Zusätzlich zeigen die radiofluorierten Si-Rhodamine nach zwei Stunden Stabilitäten über 74% in humanem Serum. Außerdem weisen die kationischen und lipophilen nicht-radioaktiven Si-Rhodamine eine beachtliche Aufnahme in Mitochondrien von PC3-Zellen auf, sodass diese Farbstoffe als Perfusionsmarker für die PET- und optische Bildgebung geeignet wären.

Ein wesentlicher Vorteil ist, dass der für die Radiofluorierung genutzte Vorläufer auch für die Radioiodierung mit Iod-123 genutzt werden kann. Somit konnte das radioiodierte Si-Rhodamin mit einer radiochemischen Ausbeute von 54% hergestellt werden und zeigt zudem den höchsten Wert der molaren Aktivität von 7.64 TBq/ μ mol für NIR-Farbstoffe. Des Weiteren wurde ein für die SPECT-Bildgebung kompatibles Si-Rhodamin exemplarisch an bekannte Tumorvektoren wie z.B. das PSMA-1007-Bindungsmotiv geknüpft. Anschließend wurde *in vitro* die Affinität des nicht-radioaktiven PSMA-1007-funktionalisierten Si-Rhodamins zu LNCaP-Tumorzellen untersucht. Zusätzlich wurde *in vivo* die Bioverteilung des Konjugats in Nacktmäusen mit Prostata-Tumor-Xenograft evaluiert. Die neuentwickelten Si-Rhodamine stellen eine neue Klasse radiomarkierter Fluoreszenzfarbstoffe dar, die vielversprechende Eigenschaften für die multimodale Bildgebung zeigen.

Radiomarkierung der Si-Rhodamine mit Technetium-99m und Fluor-18



Radiomarkierung der Si-Rhodamine mit Iod-123

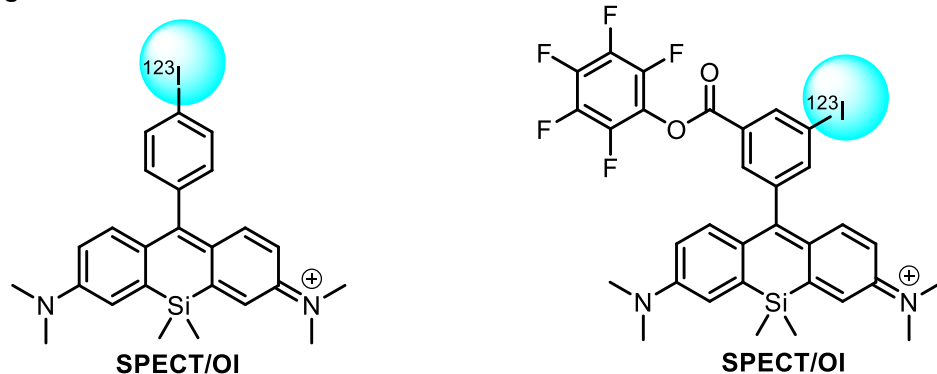


Abbildung 1: Überblick der verschiedenen Si-Rhodamine, welche für die bimodale molekulare (PET, SPECT) und optische Bildgebung (OI) im Rahmen dieser Arbeit mit den klinisch relevanten Radionukliden Technetium-99m, Fluor-18 und Iod-123 markiert wurden.

Abkürzungsverzeichnis

2D	zweidimensional
Abs	Absorption
ALOX	Aluminiumoxid
AMG	Arzneimittelgesetz
AMWHV	Arzneimittel- und Wirkstoffherstellungsverordnung
APD	engl.: „ <i>avalanche photo diode</i> “
Äq.	Äquivalent
BLI	Biolumineszenz-Bildgebung (engl.: „ <i>bioluminescence imaging</i> “)
BMG	Bundesministerium für Gesundheit
BODIPY	4,4'-Difluor-4-bora-3a,4a-diaza-S-indacen
brsm	engl.: „ <i>based on recovered starting material</i> “
CCD	Ladungsgekoppeltes Bauelement (engl.: „ <i>charge-coupled device</i> “)
CLI	Tscherenkow Lumineszenz Bildgebung (engl.: „ <i>Tscherenkow Luminescence Imaging</i> “)
COSY	engl.: „ <i>correlated spectroscopy</i> “
COX-1	Cyclooxygenase-1
COX-2	Cyclooxygenase-2
C _q	Quartäres Kohlenstoffatom
CT	Computertomographie
CuAAC	Kupfer-katalysierte Azid-Alkin-Cycloaddition (engl.: „ <i>copper(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition</i> “)
CXCR4	CXC-Motiv-Chemokinrezeptor 4
d	day
DC	Dünnschichtchromatographie
DCM	Dichlormethan
DCTB	<i>Trans</i> -2-[3-(4- <i>tert</i> -Butylphenyl)-2-methyl-2-propenyliden]-malonsäuredinitril (engl.: 2-[(2 <i>E</i>)-3-(4- <i>tert</i> -Butylphenyl)-2-methylprop-2-enylidene]malononitrile)
DEPT-135	engl.: „ <i>distortionless enhancement by polarization transfer</i> “
DIBAL-H	Diisobutylaluminiumhydrid
DIPEA	Diisopropylethylamin
DMSO	Dimethylsulfoxid
DOTA	1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1,4,7,10-tetraessigsäure
DTPA	Diethylentriaminpentaessigsäure
EE	Essigsäureethylester

Em	Emission
EOS	engl.: „ <i>end of synthesis</i> “
ESI	Elektrospray-Ionisation
Et	Ethyl
<i>et al.</i>	<i>et alia</i>
FAP1	engl.: „ <i>fibroblast activation protein inhibitor</i> “
FDA	engl.: „(United States of America) Food and Drug Administration“
FDG	engl.: „2-[¹⁸ F]Fluor-2-desoxy-D-glucose“
FLI	Fluoreszenzbildgebung (engl.: „ <i>fluorescence imaging</i> “)
Fmoc	Fluorenylmethoxycarbonyl
GCP II	Glutamatcarboxypeptidase II
GFP	Grün fluoreszierendes Protein
GMP	good manufacturing practice
GRPr	engl.: „ <i>gastrin-releasing peptide receptor</i> “
HBED-CC	<i>N,N'</i> -Bis(2-hydroxy-5-(ethylen-carboxy)benzyl)ethylendiamin- <i>N,N'</i> -diessigsäure
HEPES	2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethansulfonsäure
HMBC	engl.: „ <i>heteronuclear multiple bond correlation</i> “
HMPAO	Hexamethylpropylenaminoxim
HOMO	engl.: „ <i>highest occupied molecular orbital</i> “
HPLC	engl.: „ <i>high performance liquid chromatography</i> “
HR	engl.: „ <i>high resolution</i> “
HSQC	engl.: „ <i>heteronuclear single quantum coherence</i> “
<i>IC</i> ₅₀	Mittlere inhibitorische Konzentration (engl.: „ <i>half maximal inhibitory concentration</i> “)
IC	Interne Konversion (engl.: „ <i>internal conversion</i> “)
ICG	Indocyaningrün
IDA	engl.: „ <i>iminodiacetic acid</i> “
ISC	engl.: „ <i>intersystem crossing</i> “
IVIS	engl.: „ <i>in vivo imaging system</i> “
LiHMDS	Lithiumhexamethyldisilazid
Lit.	Literatur
LUMO	engl.: „ <i>lowest unoccupied molecular orbital</i> “
LYSO	engl.: „ <i>lutetium–yttrium oxyorthosilicate</i> “
<i>m/z</i>	Masse-zu-Ladung-Verhältnis
MALDI	Matrix-assistierte-Laser-Desorption-Ionisierung

mCPBA	<i>meta</i> -Chlorperbenzoesäure
MeCN	Acetonitril
MeOH	Methanol
Met	Methyl
MRT	Magnetresonanztomographie
MS	Massenspektrometrie
NBS	<i>N</i> -Bromsuccinimid
<i>n</i> -BuLi	<i>n</i> -Butyllithium
NHS	<i>N</i> -Hydroxysuccinimid
NIR	Nahinfrarot
NMR	Nuklearmagnetische Resonanz
OI	Optische Bildgebung (engl.: „ <i>optical imaging</i> “)
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung (engl.: „ <i>phosphate-buffered saline</i> “)
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PFP	Pentafluorophenyl
PMT	engl.: „ <i>photomultiplier tubes</i> “
PNP	<i>para</i> -Nitrophenyl
ppm	engl.: „ <i>parts per million</i> “
PSMA	Prostata-spezifisches Membran Antigen
QA	Quantenausbeute
QMA	engl.: „ <i>quaternary methyl ammonium</i> “
RCC	engl.: „ <i>radiochemical conversion</i> “
RCY	engl.: „ <i>radiochemical yield</i> “
R_f	Retentionsfaktor
RKI	Robert-Koch-Institut
RT	Raumtemperatur
SEV	Sekundärelektronenvervielfacher
SiPM	engl.: „ <i>silicon photomultiplier</i> “
SPE	Festphasenextraktion (engl.: „ <i>solid phase extraction</i> “)
SPECT	Einzelphotonen-Emissions-Computertomographie (engl.: „ <i>single photon emission computer tomography</i> “)
SSTR2	Somatostatin-Rezeptor Typ 2
StrlSchV	Strahlenschutzverordnung
SuFEx	engl.: „ <i>sulfur(VI) fluoride exchange</i> “
TBDMS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl
TBTA	Tris[(1-benzyl-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-yl)methyl]amin

<i>tert</i>	<i>tertiär</i>
TFA	Trifluoressigsäure (engl.: „ <i>trifluoroacetic acid</i> “)
THF	Tetrahydrofuran
TMDHS	(2,7- <i>N,N,N,N</i> -Tetramethyl-9-dimethyl-10-hydro-9-silaanthracen)
TMSCI	Trimethylsilylchlorid
TOF	engl.: „ <i>time of flight</i> “
US	Ultraschallbildgebung
UV	Ultraviolett
VIS	engl.: „ <i>visible</i> “
WAX	engl.: „ <i>weak anion exchange</i> “
WHO	engl.: „ <i>World Health Organization</i> “
w_T	Massenanteil in Prozent
δ	Chemische Verschiebung
ε	Molarer Extinktionskoeffizient
λ	Wellenlänge

Inhaltsverzeichnis

1. Theoretischer Teil	1
1.1 Einleitung.....	1
1.2 Die Grundlagen der radiopharmazeutischen Chemie	2
1.3 Wichtige diagnostische Radionuklide in der Nuklearmedizin	4
1.4 Bildgebende Verfahren in der Medizin	9
1.5 Elektronische und optische Eigenschaften von Molekülen.....	14
1.6 Fluoreszenzfarbstoffe für biomedizinische Applikationen.....	16
1.7 Die bimodale Bildgebung – Kombination von nuklearmedizinischer und optischer Bildgebung	27
2. Zielsetzung	33
3. Ergebnisse und Diskussion	35
3.1 Die Synthese von Si-Rhodaminen durch Palladium-katalysierte Suzuki-Miyaura- Kreuzkupplungen	35
3.2 Die Synthese von Technetium-99m markierten Si-Rhodaminen für die SPECT/OI- Bildgebung	47
3.3 Die Synthese von Si-Rhodaminen zur Radiofluorierung in SiFA- Isotopenaustauschreaktionen.....	64
3.4 Die Synthese von radiohalogenierten Si-Rhodaminen.....	74
3.5 Die Synthese von biokonjugierbaren Si-Rhodaminen zur Radiomarkierung	101
4. Zusammenfassung und Ausblick	131
5. Experimental Section.....	137
5.1 General remarks.....	137
5.2 Syntheses.....	142
5.3 Radiolabeling procedures for the Si-rhodamines	204
5.4 Determination of the optical properties of the Si-rhodamines.....	221
5.5 Determination of the partition coefficient of 134 via absorption measurements.....	223

5.6 Confocal laser scanning microscopy – mitochondrial colocalization experiments with PC3-cells	224
5.7 Fluorescent binding assay	224
5.8 Determination of half-maximal inhibitory concentration (<i>IC</i> ₅₀)	225
5.9 <i>In vitro</i> fluorescence detection of stained tissue	226
5.10 <i>In vivo/ex vivo</i> mice experiments	226
6. Anhang	229
6.1 NMR-Spektren	229
6.2 IR-Spektren	274
6.3 MALDI-MS-Spektrum von Si-Rhodamin 134	275
6.4 UV-Vis-NIR Spektren von ausgewählten Si-Rhodaminen	276
7. Literatur	279
8. Danksagung	296
9. Eidesstattliche Versicherung	299

1. Theoretischer Teil

1.1 Einleitung

Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) und das Robert Koch Institut (RKI) stufen Krebs - nach den Herz-Kreislauf-Erkrankungen - weltweit zur zweitgrößten Todesursache im Jahr 2015 ein.^[1-2] Die weltweite Zahl an Krebserkrankungen ist stark fortschreitend und betrug im Jahr 2018 über 18 Millionen Inzidenzen, wobei in Deutschland jährlich bis zu 500.000 Fälle zu verzeichnen sind. Außerdem steigt die Zahl der Fälle mit zunehmendem Alter an. Während zu den häufigsten Krebsarten nach absteigender Häufigkeit Lungen-, Brust-, Prostata- und Darmkrebs zählen, gehören zu den tödlichsten Krebstypen Lungen-, Magen-, Leber-, Brust-Darm-, aber auch Pankreaskrebs. Demnach treten bei Frauen vor allem Brustkrebs und bei Männern Prostatakrebs am Häufigsten auf.^[1]

Heutzutage gibt es unterschiedliche Methoden und Ansätze zur Bekämpfung von Krebs. Zu den wichtigsten Therapiemöglichkeiten zählen Strahlen- und Chemotherapien sowie Immun-, Hormon- oder auch zielgerichtete Therapieansätze.^[3] Ist die Chirurgie möglich, finden zahlreiche Operationstechniken zur Tumorsektion Anwendung. Des Weiteren sind Diagnose- und Therapiemöglichkeiten von Tumoren durch Verwendung (offener) radioaktiver Substanzen möglich, die als radioaktive Arzneimittel (sog. Radiopharmaka) verabreicht werden. Dieser Bereich der modernen Nuklearmedizin stellt ein fundamentales Konzept dar, das als Radioindikator oder Radiotracer Prinzip bezeichnet wird. Hierbei werden die kernphysikalischen und die pharmakokinetischen Eigenschaften der verwendeten Radiopharmaka in der Medizin genutzt, um die Diagnose und die Therapie von Krebserkrankungen durchzuführen. Dabei stehen die Versorgung kranker Menschen und die Erforschung wichtiger Mechanismen und Wirkungsweisen von Arzneimitteln im Vordergrund.^[4]

In einem Teilgebiet der Nuklearmedizin, der radiopharmazeutischen Chemie, werden o.g. Radiotracer als Radiopharmaka für die molekulare nichtinvasive Bildgebung mittels der nuklearmedizinischen Diagnoseverfahren der Positronen-Emissions-Tomographie (PET) und Einzelphotonen-Emissions-Computertomographie (SPECT) entwickelt.^[4] Hierbei kommen moderne Bildgebungsverfahren, die in Abschnitt 1.4 näher erläutert werden, zur Anwendung. In Abhängigkeit vom eingesetzten Radionuklid kommen Radiopharmaka auch für die zielgerichtete Endoradiotherapie zum Einsatz.

1.2 Die Grundlagen der radiopharmazeutischen Chemie

In der radiopharmazeutischen Chemie werden vor allem die Teilbereiche Radiochemie/Nuklearchemie und Radiopharmazie miteinander kombiniert und genauer untersucht. Daraus ergibt sich ein vielseitiges und interdisziplinäres Feld. Demnach stehen in der radiopharmazeutischen Chemie primär die Entwicklung, die Herstellung und die Bereitstellung radioaktiver Arzneimittel, der Radiopharmaka, im Fokus. Die Radiopharmaka werden, unter Berücksichtigung des Strahlenschutzes, in der Diagnose und Therapie von Krankheitsfällen untersucht und erlauben wichtige Informationen über Krankheitsverläufe. Für die Diagnose wird beispielsweise die Verteilung eines Radiopharmakons im lebenden Organismus zeitlich verfolgt und analysiert.^[4]

Für therapeutische Zwecke wird die Tumorbekämpfung durch Endoradionuklidtherapie erzielt. Hierzu zählen beispielsweise die Radioimmuntherapie oder die Peptid-vermittelte Radiorezeptortherapie (PRRT).^[4]

Die Herstellung von Radiopharmaka unterliegt zahlreichen Herausforderungen. Demnach müssen die meist kurzlebigen Radionuklide für die jeweilige Anwendung produziert und unmittelbar danach zu den entsprechenden Radiopharmaka umgesetzt und final den Patienten zur Verfügung gestellt werden. Aus strahlenschutztechnischen Gründen und unter Berücksichtigung der physikalischen Halbwertszeiten sollte die Zahl der Syntheseschritte zum Radiopharmakon gering und die Herstellungszeit minimal gehalten werden. So können hohe molare beziehungsweise spezifische Aktivitäten erzielt werden. Die für die Herstellung von Arzneimittel nötigen Radionuklide werden durch die Radionuklidproduktion in Kernreaktoren, in einem Teilchenbeschleuniger, dem Zyklotron vorgehalten oder mittels Radionuklidgeneratoren bereitgestellt.^[4]

Die hergestellten Radiopharmaka unterliegen strengen gesetzlichen Richtlinien und Verordnungen. Analog zu den Arzneimitteln werden Radiopharmaka, unter Beachtung der sogenannten Guten Herstellungspraxis (GMP, engl.: „*good manufacturing practice*“) hergestellt. Zusätzlich muss das Strahlenschutzgesetz (StrlSchG) und die Strahlenschutzverordnung (StrlSchV) bei der Herstellung der Radiopharmaka eingehalten werden. Das Arzneimittelgesetz (AMG), die Verordnung über radioaktive oder mit ionisierenden Strahlen behandelte Arzneimittel- (AMRadV) und die Arzneimittel- und Wirkstoffherstellungsverordnung (AMWHV) sind Voraussetzung für das Arbeiten und dem medizinisch-klinischen Einsatz der Radiopharmaka.^[4]

Die hergestellten radioaktiven Arzneimittel finden sich hauptsächlich in der Diagnostik, aber auch in der Therapie wieder. Hierbei liegen die Konzentrationen der *in vitro* oder *in vivo* verabreichten Radiopharmaka lediglich im nano- bis pikomolaren Konzentrationsbereich (10^{-9}

bis 10^{-10} M). Als besonders vorteilhaft erweist sich, dass sich mit dieser sehr geringen Substanzmenge der Stoffwechsel im Körper kaum beeinflussen lässt. Diese Feststellung von George de Hevesy wird als Radiotracer-Prinzip oder Radioindikator-Prinzip bezeichnet.^[5-6]

In Abbildung 2 ist der allgemeine Aufbau eines Radiopharmakons als Grundgerüst veranschaulicht. Demnach besteht das Radiopharmakon aus drei wesentlichen Komponenten: einem Target-spezifischen Molekül und dem Radionuklid, welche durch einen Linker miteinander verbunden sind.^[4, 7]

Das Target-spezifische Vektormolekül visiert die Zellen oder das Gewebe eines biologischen Targets an und kann entweder aus einem niedermolekularen anorganischen oder organischen Molekül, einem Protein oder Peptid, einem Antikörper oder Antikörperfragment oder auch einem Nanopartikel bestehen. Das Vektormolekül ist gegen ein biologisches Target/Biomolekül gerichtet, welches aus einem Enzym, Antigen, Rezeptor, ein Transportprotein oder einer Zellmembran bestehen kann. Dabei ist es von enormer Bedeutung, dass das Vektormolekül, auch Bindungsvektor oder Pharmakophor genannt, eine hohe Spezifität und Selektivität zum Targetmolekül aufweist, damit eine äußerst effiziente und hochaffine Bindung zum Rezeptor gewährleistet wird. Zu den Targetmolekülen zählen beispielsweise Somatostatin-Rezeptoren (z.B. SSTR2), Chemokinrezeptoren (z.B. CXCR4), Bombesinrezeptoren, Neurotensinrezeptoren oder auch der „*Gastrin-releasing peptide receptor*“ (GRPr).^[4, 8]

Das Target-spezifische Molekül ist wiederum über einen geeigneten und stabilen Abstandhalter, dem Linker oder Spacer an ein Radionuklid gebunden. Im Falle von niedermolekularen organischen Radiopharmaka kann das Radionuklid auch direkt an das Vektormolekül gebunden sein, sodass keine Linkerfunktion notwendig ist.^[7] Außerdem kann für das Radionuklid auch ein Komplexbildner (Chelator) als Linker fungieren. Die Wahl eines geeigneten Radionuklids ist davon abhängig, ob diagnostische oder therapeutische Ziele verfolgt werden sollen. Die wichtigsten Radionuklide aus der Nuklearmedizin und deren Anwendungen sind in Kapitel 1.3 beschrieben.^[4, 7, 9-10]

Die Verteilung des Radiopharmakons im Körper kann durch die ausgesandte Strahlung vom Radionuklid nichtinvasiv mittels PET oder SPECT detektiert und analysiert werden.

Die Radiomarkierung des maßgeschneiderten Vorläufers erfolgt idealerweise im letzten Schritt der Synthese.^[4]

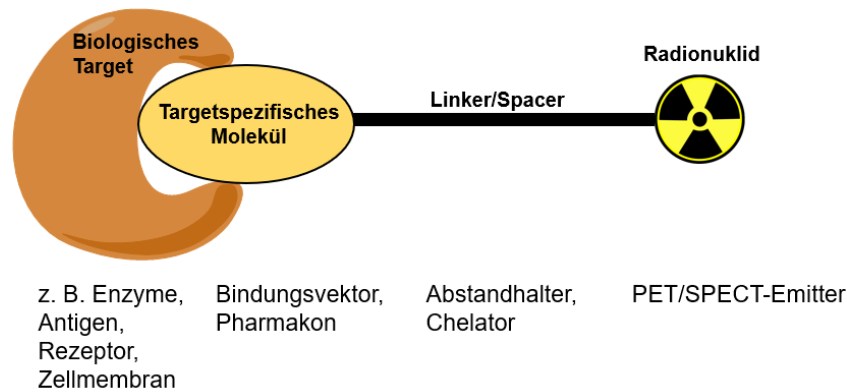


Abbildung 2: Der allgemeine Aufbau eines Radiopharmakons besteht aus drei Komponenten: das biologische Zielmolekül (Target), wie z.B. Enzyme, Antigene, Rezeptoren oder die Zellmembran, wird durch Bindung eines spezifischen und selektiven Bindungsvektors oder eines Pharmakons „markiert“ (niedermolekulare anorganische oder organische Verbindungen, wie Peptide, Proteine, Antikörper, Nanopartikel etc.). Dieser Teil und das Radionuklid kann durch einen Abstandhalter (Spacer) und (im Falle der Markierung mit einem Radiometall) zusätzlich durch einen Komplexbildner (Chelator) getrennt werden, welcher das Radionuklid komplexiert. Die Radionuklide können durch bildgebende Messmethoden (PET/SPECT) detektiert werden.^[4, 10]

Die Verabreichung der radioaktiven Arzneimittel wird überwiegend durch intravenöse Injektion von sterilen und gepufferten physiologischen Salzlösungen erreicht, in welchen der jeweilige Radiotracer enthalten ist. Besondere Anforderungen an die entwickelten Radiopharmaka werden an die Überwindung von Zellmembranen oder der Blut-Hirn-Schranke gestellt.^[4]

1.3 Wichtige diagnostische Radionuklide in der Nuklearmedizin

Wie im vorherigen Abschnitt beschrieben, werden in der Nuklearmedizin Radionuklide für diagnostische und therapeutische aber auch in Kombination für sogenannte theragnostische Zwecke verwendet. Folglich ist das Ziel der Behandlung ausschlaggebend, um eine Aussage zu treffen, welches Radionuklid eingesetzt werden soll. Für diagnostische Anwendungen sollte das Radionuklid dabei so gewählt werden, dass das Radionuklid eine physikalische Halbwertszeit in der Größenordnung des zu untersuchenden Prozesses im Patienten aufweist. Demnach werden sehr kurzlebige PET-Radionuklide wie Sauerstoff-15 (^{15}O) mit einer Halbwertszeit von 2.03 Minuten für Prozesse mit sehr kurzen biologischen Halbwertszeiten wie Blutstrommessungen eingesetzt.^[11] Zur Untersuchung von längeren biologischen Prozessen, wie beispielsweise Proteinsynthesen oder für den Aminosäureverbrauch, eignen sich vor allem Kohlenstoff-11 (^{11}C) oder Fluor-18 (^{18}F) als Radionuklide der Wahl.^[11] Weitere ausschlaggebende Punkte aus der Radionuklidproduktion sind, dass die Produktionszeit der Radionuklide, die anschließende Verarbeitung in das

Radiopharmakon und schließlich der Transportweg zum Patienten im Wesentlichen minimal gehalten werden müssen. Dabei gilt aus Strahlenschutzgründen prinzipiell, anhaltende Strahlenexpositionen zu vermeiden. Physikalische Halbwertszeiten in der Größenordnung von Tagen bis Wochen sind für diagnostische Anwendungen in diesem Zusammenhang nachteilig, aber im Falle einer endoradiotherapeutischen Anwendung notwendig.^[4]

Außerdem müssen die, durch den im radioaktiven Zerfallsprozess der Radionuklide emittierenden Partikel bzw. Strahlung, eine geeignete Energie aufweisen, damit sie problemlos detektiert werden können.^[10]

In Tabelle 1 sind die bekanntesten Radionuklide aus der Nuklearmedizin, welche in der Diagnostik und in der Therapie Anwendung finden, und deren Verwendungen aufgeführt.

Das gängigste diagnostische Radionuklid für die Positronen-Emissions-Tomographie (PET) ist Fluor-18 mit einer Halbwertszeit ($t_{1/2}$) von 109.7 Minuten und einer Zerfallswahrscheinlichkeit von 97% als Positronenemitter und zu 3% Elektroneneinfang.

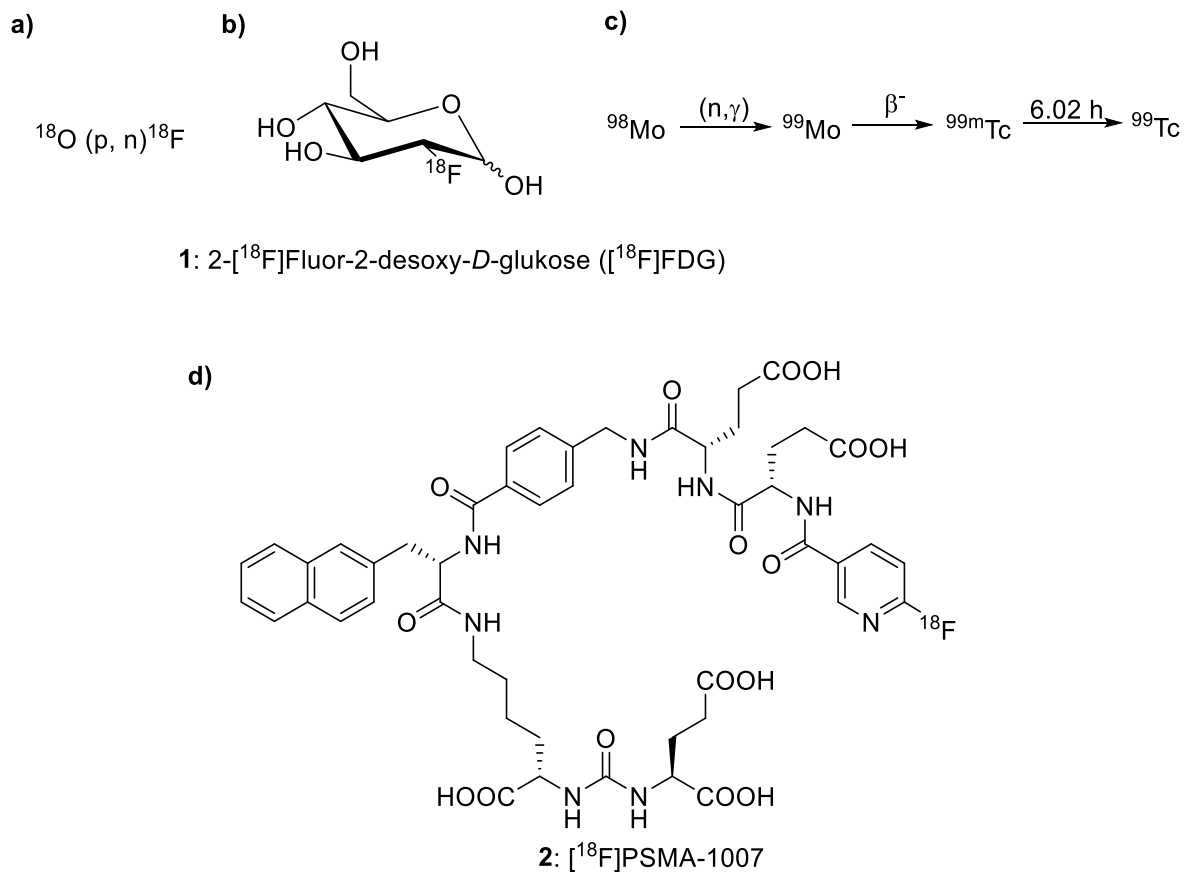
Tabelle 1: Wichtige Radionuklide, welche in der Diagnostik Anwendung finden und deren charakteristische Kenngrößen hinsichtlich ihrer Verwendung zur molekularen Bildgebung. β^+ : Positron, β^- : Elektron, γ : Gammastrahlung.^[4]

Radionuklid	Halbwertszeit	Energie	Zerfallsprodukt	Verwendung
¹¹ C	20.4 min	β^+ : 960 keV	¹¹ B	PET
¹⁵ O	2.03 min	β^+ : 735 keV γ : 511 keV	¹⁵ N	PET
¹⁸ F	109.7 min	β^+ : 250 keV γ : 511 keV	¹⁸ O	PET
⁶⁴ Cu	12.7 h	β^+ : 278 keV β^- : 191 keV γ : 511 keV	⁶⁴ Zn (β^-) ⁶⁴ Ni (β^+)	PET
⁶⁸ Ga	67.7 min	β^+ : 1.9 MeV	⁶⁸ Zn	PET
^{99m} Tc	6.02 h	γ : 141 keV	^{99m} Tc	SPECT
¹²³ I	13.2 h	γ : 159 keV	¹²³ Te	SPECT
¹²⁴ I	4.15 d	β^+ : 820 keV γ : 1691 keV γ : 603 keV γ : 511 keV	¹²⁴ Te	PET
¹³¹ I	8.02 d	γ : 364 keV γ : 637 keV	¹³¹ Xe	SPECT, Therapie

Die Positronenenergie des Fluor-18-Radionuklids beträgt 0.635 Megaelektronenvolt (MeV) und die durchschnittliche Reichweite des entstehenden Positrons beträgt 2.3 mm in Wasser. Deshalb besitzt dieses Radionuklid die höchste Ortsauflösung im Vergleich zu allen anderen PET-Radionukliden.^[12-15] Aufgrund dieser Eigenschaften und der leichten Einführung in

organische Moleküle werden auf Fluor-18 basierende Verbindungen als Radiotracer für die Bildgebung von biologischen und biochemischen Prozessen oder auch für die Früherkennung von Krankheitsbildern verwendet.^[4, 12] In Schema 1a wird eine Variante zur Herstellung des Fluor-18 mittels Zyklotrons gezeigt. Demnach kann radioaktives Fluor-18 mithilfe der Bestrahlung von mit Sauerstoff-18 angereichertem Wasser mit beschleunigten Protonen gewonnen werden (Schema 1a).

Das in der Nuklearmedizin bekannteste auf Fluor-18 basierende Radiopharmakon ist die Fluor-18-markierte Glukose: 2-[¹⁸F]Fluor-2-desoxy-*D*-glukose ([¹⁸F]FDG **1**, siehe Schema 1b), welche seit 1976 für die Bildgebung und Diagnose unterschiedlicher Erkrankungen genutzt wird.^[11, 16-17] Das Glukoseanalogon kann zur *in vivo* Erfassung des Glukosestoffwechsels in Tumorzellen und zur nichtinvasiven Ganzkörperumordetektion zur Hilfe genommen werden.



Schema 1: a) Beispielhafte Herstellung des PET-Radioisotops Fluor-18 durch Bestrahlung von mit ¹⁸O-Sauerstoff angereichertem Wasser mit schnellen Protonen in einem Zyklotron.^[4] b) Chemische Struktur der 2-[¹⁸F]Fluor-2-desoxy-*D*-glukose **1**.^[18] c) Schematische Darstellung der Radionuklidproduktion des SPECT-Radionuklids Technetium-99m via Molybdän-98.^[4] d) Chemische Strukturformel des radioaktiven Wirkstoffs [¹⁸F]PSMA-1007 **2** zur Detektion von Prostata Tumorzellen.^[19]

Im Gegensatz zu anderen Tumortracern ist mit [¹⁸F]FDG eine Detektion von unterschiedlichen Tumoren zur selben Zeit möglich, da ein allgemein erhöhter Stoffwechsel in Tumorzellen angezeigt wird. Dies ist auf die erhöhte Aufnahme des Radiotracer über Glucose-Transporter und dem anschließenden intrazellulären „trapping“ in Geweben mit erhöhtem Glucose-Bedarf wie in Tumoren, aber auch in Herz und Hirn, zurückzuführen.^[20-21]

Der Wirkmechanismus von [¹⁸F]FDG im Körper ist analog zur herkömmlichen Glukose. Nach Aufnahme in die Zelle wird das [¹⁸F]FDG durch die Hexokinase phosphoryliert. Im Vergleich zur phosphorylierten Glukose unterliegt das radioaktive [¹⁸F]FDG-6-Phosphat nicht der weiteren Glykolyse. Da nun die Rückreaktion der Dephosphorylierung des [¹⁸F]FDG-6-Phosphats verhältnismäßig langsam stattfindet, reichert sich das [¹⁸F]FDG-6-Phosphat in der Zelle an. Dieser Vorgang wird als sogenanntes „metabolic trapping“ bezeichnet. Hierbei kann die erhöhte Anreicherung im Gewebe durch die beim Zerfall von Fluor-18 gebildete Gammastrahlung mittels PET-Bildgebung verfolgt und analysiert werden. Da der Verbrauch von Glukose in Tumorzellen höher als in gesunden Zellen ist, können wichtige diagnostische Erkenntnisse über mögliche Erkrankungen gewonnen werden.^[4, 18, 21]

Ein weiterer prominenter Vertreter von radiofluorierten Radiotracer, welcher zur Detektion des Prostata-spezifischen Membran Antigens (PSMA) dient, ist der Wirkstoff [¹⁸F]PSMA-1007.^[19, 22-24] Das Radiopharmakon [¹⁸F]PSMA-1007 wird zur Bildgebung von Prostatatumoren und für eine entsprechende Therapieentscheidung eingesetzt. In Schema 1d wird die chemische Struktur des Fluor-18 markierten Peptidomimetikums **2** gezeigt.

[¹⁸F]PSMA-1007 besitzt eine nachweislich hohe spezifische Bindungsaffinität zu Prostatakrebszellen und kann sich aus diesem Grund selektiv an diese Zellen anreichern. Das PSMA, das membranständige Enzym Glutamatcarboxypeptidase II (GCP II), ist sowohl auf der Oberfläche von gesunden Prostatazellen, aber vor allem auch auf Prostatakrebszellen vorhanden. Da auf der Oberfläche von Prostatakrebszellen eine erhöhte Konzentration von PSMA vorhanden ist, stellt das Radiopharmakon [¹⁸F]PSMA-1007 einen idealen PET-Tracer dar, da sich dieser spezifisch in den Krebszellen anreichert. Durch die Anreicherung des radiomarkierten Wirkstoffs an die Krebszellen können der Tumor beziehungsweise die Tumorzellen mittels molekularer Bildgebungsverfahren sichtbar gemacht werden, in diesem Fall mittels PET-Bildgebung. Bisher sind zahlreiche weitere diagnostische PSMA-bindende Tracer auf Basis der Leitstruktur Glu-urea-Lys, die in [¹⁸F]PSMA-1007 enthalten ist, mit weiteren Radionukliden bekannt, wie Gallium-68, Technetium-99m, Indium-111 oder Kupfer-64.^[25-31] Zusätzlich können durch die Verwendung der PSMA-Bindungsmotive und dem Einsatz therapeutischer oder theragnostischer Radionuklide sogar Tumorzellen vernichtet und somit fortgeschrittener Prostatakrebs effektiv behandelt werden. Hierzu zählen vor allem die Radionuklide Actinium-225, Bismuth-213, Blei-212, Iod-131, Kupfer-67 und Lutetium-177.^[22, 32-38]

Das wichtigste Radionuklid für die Einzelphotonen-Emissions-Computertomographie (SPECT) oder der Szintigrafie ist das Technetium-99m, welches in der Nuklearmedizin für die *in vivo* Diagnostik verwendet wird. Der Übergang vom metastabilen Technetium-99m zum Grundzustand Technetium-99 ($^{99m}\text{Tc} \rightarrow ^{99}\text{Tc}$) ist mit einer Halbwertszeit von 6.02 Stunden optimal für nuklearmedizinische Anwendungen wie die Schilddrüsenszintigrafie, die myokardiale Bildgebung oder auch onkologischen Anwendungsfeldern geeignet.^[39] Aufgrund der geringen Gammaquantenenergie von 141 keV und der geringen Strahlenexposition für den Patienten ist das Technetium-99m, gebunden an geeigneten Liganden, zur Untersuchung von physiologischen Prozessen geeignet.^[4] Die schematische Herstellung von Technetium-99m aus der Radionuklidproduktion wird in Schema 1c gezeigt. Demnach wird in einem Kernreaktor Molybdän-98 mit thermischen Neutronen beschossen. In einer (n, γ)-Reaktion bildet sich der β^- -Emitter Molybdän-99. Das Molybdän-99 zerfällt wiederum mit einer Halbwertszeit von 66 Stunden zum Technetium-99m. Unter Aussendung eines Gammaquants geht das Technetium-99m mit einer Halbwertszeit von sechs Stunden schließlich in das Technetium-99 über. Das Technetium-99 hat eine Halbwertszeit von 213.000 Jahren.^[40-41]

Das Radionuklid ist durch entsprechende Molybdän-99/Technetium-99m-Generatoren relativ leicht verfügbar und ermöglicht eine leichte Handhabung in Kliniken im Vergleich zu Radionukliden, welche mithilfe eines Zyklotrons produziert werden müssen.^[4] Dabei erfolgt die Gewinnung von Technetium-99m als Perotechnetat TcO_4^- aus den $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ -Radionuklidgeneratoren.^[4] Durch die Verwendung der einfach zu handhabenden und schnell verfügbaren mobilen Radionuklidgeneratoren kann das für die Nuklearmedizin benötigte Technetium-99m periodisch erzeugt und weiterverarbeitet werden.^[4]

Das Technetium-99m wird nach Elution als Natriumpertechnetat ($^{99m}\text{Tc}[\text{NaTcO}_4]$) erhalten, mit geeigneten Chelatoren komplexiert und nachfolgend den Patienten verabreicht.

Weitere wichtige diagnostische Radiometalle für die PET sind Gallium-68 und Kupfer-64, welche mithilfe von entsprechenden Komplexbildnern, an die Pharmaka gebunden werden.^[7]

Das Gallium-68 besitzt eine Halbwertszeit von 68 Minuten und die maximale Energie des Positrons beträgt 1.90 MeV. Das Gallium-68 kann hierbei durch Germanium-68/Gallium-68 Generatoren gewonnen werden und ist somit leicht zugänglich. Die erhöhte Energie des emittierten Positrons (1.90 MeV) im Vergleich zum Fluor-18 (0.635 MeV) kann zu einer geringeren Ortsauflösung verbunden mit Verlusten der Bildqualität führen.^[39] Bevorzugt werden Gallium-68 Radiopharmaka wie $^{68}\text{Ga}[\text{Ga-DOTA-TOC}]$ für die Bildgebung von Somatostatin-Rezeptoren verwendet.^[10, 42-43]

Das Kupfer-64 hat eine Halbwertszeit von 12.7 Stunden und das emittierte Positron besitzt eine maximale Energie von 0.653 Megaelektronenvolt.^[10] Somit besitzt Kupfer-64 im Vergleich zum Gallium-68 eine geringere Energie des Positrons. Dieser Energieunterschied führt zu einer höheren Ortsauflösung mit schärferen Signalen.^[44] Die lange Halbwertszeit des

Kupfer-64 ermöglicht in der PET-Bildgebung, dass in Bioverteilungen langzirkulierende Biomoleküle wie monoklonale Antikörper oder langkettige Peptide, aber auch Nanopartikel über einen längeren Zeitraum verfolgt werden können.^[45]

Weitere wichtige Nuklide, welche in der Nuklearmedizin Anwendung finden, sind die Radioisotope des Iods wie das SPECT-Nuklid Iod-123 ($t_{1/2}=13.2$ h), das PET-Nuklid Iod-124 ($t_{1/2}=4.15$ d), oder das theragnostische Radionuklid Iod-131 ($t_{1/2}=8.02$ d).^[4, 46] Das Radioisotop Iod-131 ist das erste Radionuklid, welches für medizinische Zwecke wie beispielsweise zur Behandlung von Schilddrüsenkrebs verwendet wurde und seit Anfang der 1940er Jahren in der Radionuklidtherapie zur Behandlung von malignem Schilddrüsenkrebs dient.^[47-51] Zudem ist Iod-131 das erste, von der amerikanischen Zulassungsbehörde FDA im Jahr 1951, zugelassene Radiopharmaka.^[52-53] Aufgrund einer maximalen Beta-Minus Energie von 0.610 MeV und Gammaenergien zwischen 0.284 MeV und 0.637 MeV eignet sich das Iod-131 hervorragend für therapeutische Zwecke aber auch zur SPECT-Bildgebung.^[4, 54]

1.4 Bildgebende Verfahren in der Medizin

Die nichtinvasive molekulare Bildgebung umfasst die Visualisierung, Charakterisierung und Quantifizierung von biologischen und biochemischen Prozessen auf molekularer Ebene in lebenden Organismen.^[55-57] Dabei werden für die unterschiedlichen nichtinvasiven Bildgebungsmöglichkeiten spezielle Moleküle entwickelt.^[5, 58] Die Bildgebungsverfahren werden zur Früherkennung, Echtzeitanalyse und der Wirksamkeit von Wirkstoffen bei Krankheiten aber auch für onkologische Fragestellungen verwendet. Die anschließende Bildanalyse, welche durch das bildgebende Verfahren erhalten wurde, trägt maßgeblich zur Therapieentscheidung bei.^[59]

Heutzutage ist eine Vielzahl von bildgebenden Verfahren bekannt, welche klinische Anwendung finden. So zählen die Magnetresonanztomographie (MRT beziehungsweise engl.: MRI: „*magnet resonance imaging*“) und die Computertomographie (CT) als gängige morphologische und radiologische Verfahren. Weitere Verfahren in der Medizin sind die Ultraschallbildgebung (US), Endoskopie, Operationsmikroskopie, Positronen-Emissions-Tomographie (PET), Szintigraphie, Einzelphotonen-Emissions-Computertomographie (SPECT) und die optische Bildgebung (OI, engl.: „*optical imaging*“). Als besonders effektiv erweisen sich kombinatorische Hybridgeräte wie PET/CT und PET/MRT. Im Rahmen dieser Arbeit soll sich das Augenmerk ausschließlich auf die für die Nuklearmedizin relevanten Verfahren zur Bildgebung (PET, Szintigraphie, und SPECT) und der optischen Bildgebung richten.^[59]

1.4.1 Die Positronen-Emissions-Tomographie (PET)

Ein wichtiges nichtinvasives und bildgebendes Verfahren in der Nuklearmedizin ist die Positronen-Emissions-Tomographie (PET). Anhand dieser Technik werden Positronenemitter wie beispielsweise die oben genannten und bekanntesten PET-Radionuklide Kohlenstoff-11, Fluor-18 oder Gallium-68 verwendet. Das Verfahren beruht auf Messungen von Gammaquanten. Die verwendeten Radionuklide sind entweder kovalent direkt an einem Pharmakon gebunden oder mit einem geeigneten Liganden komplexiert. In der Positronen-Emissions-Tomographie werden die, bei einem Zerfallsprozess des jeweiligen Positronenemitters entstehenden Gammaquanten, detektiert und anschließend ausgewertet. Im Folgenden ist der Zerfallsprozess des Positronenemitters Fluor-18 verdeutlicht.



Demnach zerfällt der Positronenemitter ${}^{18}_{9}\text{F}$ mit einer Halbwertszeit von 109.7 Minuten zum Sauerstoffisotop ${}^{18}_{8}\text{O}$ und es entstehen ein Positron ${}^1_1\text{e}^+$ und ein Neutrino ν_0 . Dies bedeutet, dass sich aufgrund des Zerfalls im Kern des Fluor-18 ein Proton in ein Neutron umwandelt und es werden ein positiv geladenes Positron und ein elektrisch neutrales Neutrino emittiert. Nach Injektion eines PET-Radiotracers in lebendes Gewebe legen die durch den Zerfall emittierten kurzlebigen Positronen, abhängig von ihrer kinetischen Energie und der Dichte des Materials, eine Strecke zurück bei der durch Wechselwirkung mit Elektronen oder Atomkernen die kinetische Energie zunehmend sinkt.^[60] Nach Zusammentreffen eines positiv geladenen Positrons und einem negativ geladenen Elektron kommt es zur Bildung eines Positroniums nach der schließlich die Paarvernichtung, welche auch als Annihilation bezeichnet wird, folgt. Dieser Prozess ist mit einer Energiefreisetzung verbunden. Allgemein versteht man unter der Annihilation das Zusammentreffen eines Elementarteilchens und dessen Antiteilchens. In diesem Prozess entsteht Energie in Form von elektromagnetischer Strahlung. Genauer entstehen zwei Gammaquanten, deren Energien jeweils 511 keV betragen und sich diametral mit einem Winkel von ca. 180° in entgegengesetzte Richtungen verteilen (Abbildung 3). Die Energien der emittierten Positronen sind abhängig vom Radionuklid und bestimmen somit auch die zurückzulegende Strecke im lebenden Gewebe, bis sie auf Elektronen treffen. Je niedriger die Energie der Positronen ist, desto niedriger ist auch die Strecke bis zur stattfindenden Annihilation und der Entstehung der Gammaquanten. Daraus resultierend werden somit auch höhere Ortsauflösungen erhalten. Aus diesem Grund kann die höchste Ortsauflösung mit Fluor-18 markierten Radiotracern erhalten werden.^[5, 60] Die entstandenen Gammaquanten können mit hochmodernen Photonendetektoren koinzident gemessen und dreidimensional visualisiert werden. Hierbei werden nur die Ereignisse für die Auswertung gezählt, in denen die Gammaquanten gleichzeitig in einem Zeitfenster von 10 bis 20 Nanosekunden auf den Detektor treffen.^[59] Folglich können Aussagen über die

dreidimensionale Verteilung eines Radiotracers im lebenden Organismus getroffen werden. Technisch wird die Detektion der Photonen durch sich um den Patienten umgebende zylinderförmig angeordnete Detektoren realisiert, die sich aus tausenden millimetergroßen Szintillatoren und dahinter geschalteten Sekundärelektronenvervielfachern (SEV) zusammensetzen. Zu den bekanntesten SEVs für die PET zählen u.a. Photomultiplier-Röhren (PMT, engl.: „*photomultiplier tubes*“), Avalanche Photodioden (APD, engl.: „*avalanche photo diodes*“) und somit auch auf Silizium-Basis halbleitende SEVs wie moderne Silizium Photomultiplier (SiPM, engl.: „*silicon photomultipliers*“) oder auch Cer-dotierte Lutetium-Yttrium-Oxyorthosilikat (LYSO, engl.: „*Lutetium–yttrium oxyorthosilicate*“)-Photomultiplier.^[5, 59-63]

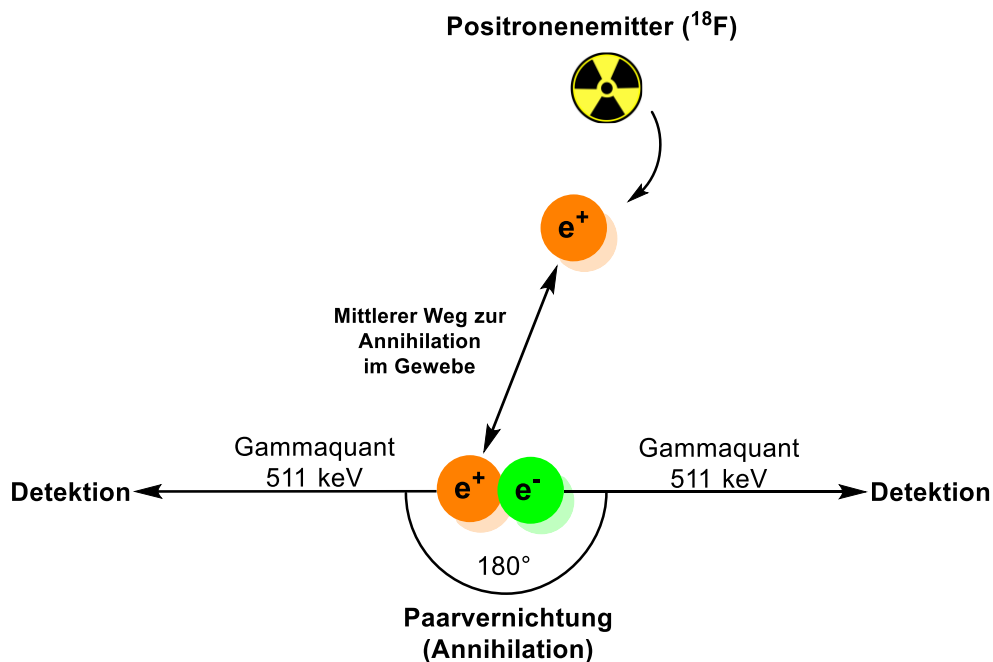


Abbildung 3: Das Prinzip der Positronen-Emissions-Tomographie (PET) anhand des Positronenemitters Fluor-18. Im lebenden Organismus treffen die emittierten Positronen des PET-Radiotracers auf Elektronen, welche nach Bildung eines Positroniums in einer Paarvernichtung Gammaquanten mit einer charakteristischen Energie von 511 keV aussenden.

Ein wesentlicher Vorteil der PET gegenüber der Einzelphotonen-Emissions-Computertomographie (SPECT) ist die Möglichkeit, dass quantitative Informationen über die Bioverteilung des Radiotracers im Körper gewonnen werden können.^[5] Zudem haben die gewonnenen Bilder oft eine höhere Auflösung und eine bessere Aussagekraft als in SPECT-Messungen.^[60]

Die wichtigsten Anwendungen der PET neben der Darstellung des Gehirnstoffwechsels in der Neurologie sind vor allem die Lokalisationen von Tumoren für onkologische Fragestellungen.

1.4.2 Die planare Szintigraphie

Ein weiteres bildgebendes Verfahren ist die planare Szintigraphie. Mit dieser physikalischen Methode wird dem Patienten ein radioaktiver Wirkstoff verabreicht und mithilfe einer beweglichen Gammakamera die Verteilung der Radioaktivität vom Radiotracer über dem zu untersuchenden Organ verfolgt und detektiert. Das hierfür am häufigsten genutzte Radionuklid ist Technetium-99m. Als reiner Gammaemitter hat Technetium-99m eine Halbwertszeit von 6,07 Stunden und ist ein Photonenemitter mit einer charakteristischen Gammaenergie von 141 keV. Die Technetium-Radiopharmaka können zur Perfusionsuntersuchung des Gehirns und des Herzens aber auch für Nierenclearance-Untersuchungen verwendet werden. Hierfür muss das Technetium an geeignete Liganden gebunden werden, welche mit dem Technetium eine hohe Komplexstabilität aufweisen. Je nach Komplexbildner können Zielorgane wie Herz (Ligand: Methoxyisobutylisonitril-Reste in Cardiolite®), Gehirn (Ligand: HMPAO: Hexamethylpropylenaminooxim), Leber (Ligand: IDA, engl.: „*iminodiacetic acid*“), Schilddrüse und die Nieren (Ligand: DTPA: Diethylentriaminpentaessigsäure) auf Unregelmäßigkeiten hin untersucht werden.^[64-65] Zusätzlich können knochenaffine Technetium-Phosphonate zur Knochenszintigraphie verwendet werden.

Allgemein liegen in der planaren Szintigraphie vor allem die Darstellung der Durchblutung (Perfusion) und onkologische Fragestellungen im Fokus.^[59]

1.4.3 Die Einzelphotonen-Emissions-Computertomographie (SPECT)

Im Vergleich zur Szintigraphie werden bei der Einzelphotonen-Emissions-Computertomographie (SPECT) nicht nur zweidimensionale Analysen des zerfallenden Radionuklids, sondern auch die dreidimensionale Verteilung des Radiotracers im Patienten erhalten. Bei SPECT handelt es sich um ein Schnittbildverfahren, welches Erkenntnisse über die Aktivitätsverteilung eines Radiotracers im lebenden Organismus liefert. Im Gegensatz zur PET-Bildgebung werden die Signale nicht durch Koinzidenz erzeugte Photonen erhalten, sondern durch die direkte Messung einzelner Gammaphotonen eines Gammastrahlungsemitterenden Radionuklids.^[41] In der SPECT erfolgt die Auswertung der Schnittbilder mithilfe von Projektionen aus unterschiedlichen Winkeln des zu untersuchenden Körpers. Analog zur Szintigraphie werden Radionuklide mit geeigneten Gammalinien eingesetzt, wie Technetium-99m, Indium-111 oder Iod-123. Grundlegend sollten die Gammaenergien der radioaktiven Quellen zwischen 100 keV und 250 keV liegen.^[45] Die Detektion der emittierten Gammaquanten erfolgt mithilfe von Gammakameras. Demnach drehen sich die Kameras um den Körper des Patienten und dann werden mehrere Schnittbildebenen unter verschiedenen Winkeln simultan erfasst. Die erhaltenen Schnittbilder werden anschließend mithilfe von

mathematischen Rekonstruktionsprozessen, der sogenannten Radon-Transformationen, welche nach dem österreichischen Mathematiker Johann Radon benannt wurden, zu einem dreidimensionalen topographischen Bild zusammengefasst. Sowohl das SPECT-Verfahren als auch die Szintigraphie besitzen äquivalente Applikationsfelder. Beispielsweise werden beide nuklearmedizinischen Verfahren zur Perfusionsbildgebung des Herzens durch Technetium-99m und dessen Durchblutung, der Nieren und der Schilddrüse zu Hilfe gezogen. Im Gegensatz zur planaren Szintigraphie wird die SPECT-Methodik häufiger verwendet, da durch SPECT eine reale dreidimensionale Aktivitätsverteilung des Radiotracers möglich ist und somit für die weiterführende Therapieentscheidung wichtige Antworten liefert.^[41, 45, 59]

1.4.4 Die optische Bildgebung (OI)

Aufgrund der hohen Sensitivität und der spezifischen und selektiven Targetbindung der eingesetzten Moleküle eignet sich neben den bisher beschriebenen Modalitäten (PET/SPECT) vor allem die optische Bildgebung (OI) als wirkungsvoll, um biologische Prozesse in der molekularen Bildgebung visuell darzustellen.^[55] Die optische Bildgebung beruht auf der Detektion von Lichtphotonen, welche mit dem Gewebe wechselwirken. Diese Modalität kann folglich in der Fluoreszenz-gestützten Chirurgie oder Endoskopie zur Resektion von Tumoren nützlich sein. Hierbei werden die Farbstoffe mithilfe von externen Lichtquellen angeregt. Somit stellt diese Methode eine vielversprechende Modalität für künftige klinische Anwendungen dar.^[12, 66-68] Die optische Bildgebung beinhaltet die Teilgebiete der Biolumineszenz-Bildgebung (BLI, engl.: „*bioluminescence imaging*“), welche auf der Detektion von natürlichen Lichtquellen aus lebenden Organismen wie das grün fluoreszierende Protein (GFP, engl.: „*green fluorescent protein*“) oder Enzyme wie die Luziferase beruht, der Cherenkov-Lumineszenz Bildgebung (CLI, engl.: „*Cherenkov luminescence imaging*“) und die Fluoreszenz-Bildgebung (FLI, engl.: „*fluorescence imaging*“).^[12, 69] Die CLI beruht auf dem gleichnamigen Tscherenkow-Effekt, welcher beschreibt wie Gammaquanten-emittierende Radionuklide in einem Medium optisch sichtbar gemacht werden, indem sich die entstehenden geladenen Teilchen wie Positronen oder Elektronen schneller als Licht im betreffenden Medium bewegen.^[69] Im Rahmen dieser Arbeit liegt der Fokus vorwiegend auf der Fluoreszenz-Bildgebung. In der FLI werden Fluoreszenzfarbstoffe mit idealen optischen Eigenschaften genutzt, um *in vitro* oder auch *in vivo* Prozesse mittels physikalischer Methoden wie leistungsstarke Mikroskope oder Kameras sichtbar zu machen und in Echtzeit zu verfolgen. Häufig werden die Farbstoffe an targetspezifischen Molekülen gebunden, um eine selektive Anreicherung an zellulären Zielorganellen zu erreichen.^[69]

Um geeignete Farbstoffe für biomedizinische Fragestellungen zu finden, müssen unterschiedliche Gesichtspunkte in Betracht gezogen werden und somit sind nur eine limitierte

Anzahl an geeigneten Farbstoffen vorhanden. Eine wichtige Größe bei der Entwicklung von Fluoreszenzfarbstoffen ist eine geeignete Wellenlänge im sichtbaren- bzw. im Nahinfrarotbereich (NIR) zwischen 400 und 1500 Nanometern.^[70] Je langwelliger dabei die Strahlung ist, desto gewebeschonender sind die auf lebende Organismen treffenden Photonen. Zudem wird mit zunehmender Wellenlänge die Möglichkeit zur Autofluoreszenz gesenkt. Mit Wellenlängen bei ca. 600 nm werden hauptsächlich Biomoleküle wie (sauerstoffreiches) Hämoglobin oder auch Wasser von externem Licht angeregt und diese unerwünschten Absorptionen können durch den Einsatz von Wellenlängen im NIR-Bereich verhindert werden. Folglich sollte der ideale Wellenlängenbereich für die optische Bildgebung im tiefroten bis klinischen NIR-Bereich mit Wellenlängen zwischen 700 nm und 1000 nm liegen.^[71-75] Jedoch muss bei dieser Anwendung in Betracht gezogen werden, dass der Einsatz der niedrigenergetischen Photonen lediglich zu einer geringen Gewebepenetration im unteren Zentimeterbereich führt.^[76-77] Da Nahinfrarotlicht mit den Augen nicht mehr erkannt werden kann, müssen hierfür leistungsfähige CCD-Kameras (CCD, engl.: „*charge-coupled device*“) zur Detektion verwendet werden.^[68, 78-79]

Von der amerikanischen Zulassungsbehörde Food and Drug Administration (FDA) wurden seit 1959 lediglich das Indocyaningrün (ICG) und der Xanthenfarbstoff Fluorescein zugelassen (Schema 2). Ein weiterer Farbstoff des Typs Rhodamin B wurde aufgrund potenzieller Kanzerogenität nach kurzer Zeit wieder von der FDA ausgeschlossen.^[67, 75, 80] Die Farbstoffe ICG und Fluorescein werden vorwiegend in der Ophthalmologie eingesetzt und werden dabei den Patienten im Multimilligramm-Maßstab verabreicht.^[68, 81] Dagegen sind für Anwendungen in der optischen Bildgebung lediglich kleine Mengen dieser Fluoreszenzfarbstoffe notwendig.^[68]

1.5 Elektronische und optische Eigenschaften von Molekülen

Definitionsgemäß wird Licht als eine Form der elektromagnetischen Strahlung betrachtet und kann in eine elektrische und magnetische Komponente unterteilt werden.^[82] Atome oder Moleküle können elektromagnetische Strahlung einer bestimmten Wellenlänge absorbieren und dadurch angeregt werden (Abbildung 4; blauer Pfeil). Hierbei gelangen die Elektronen eines Atoms/Moleküls vom Grundzustand S_0 in energiehöhere Energieniveaus wie S_1 , S_2 usw. Es resultieren zwei unterschiedliche Relaxationspfade. Dabei kann zwischen einer strahlenden oder einer strahlungslosen Desaktivierung unterschieden werden.

Unter der strahlenden Desaktivierung versteht man, dass das durch Absorption angeregte Molekül wieder in den Grundzustand gelangt, indem es in etwa die Energiedifferenz des angeregten Zustands und Grundzustands als Photon emittiert. Folglich findet eine Emission

elektromagnetischer Strahlung in Form einer bestimmten Wellenlänge statt. Diese Beziehung kann mit folgender Gleichung dargestellt werden.

$$\Delta E = h \frac{c}{\lambda} \quad (2)$$

Demnach wird die Energiedifferenz zweier Energiezustände " ΔE " mithilfe der Naturkonstante, dem Plank'schen Wirkungsquantum h ($h=6.63 \cdot 10^{-34}$ Js), der Lichtgeschwindigkeit c ($c=3 \cdot 10^8$ m/s) und der Wellenlänge λ berechnet. Die strahlende Desaktivierung kann weiterhin in die Phänomene Fluoreszenz oder Phosphoreszenz eingeteilt werden. Diese energetischen Prozesse sind in einem Jablonski Diagramm in Abbildung 4 grün und orange dargestellt.^[83] Während der Fluoreszenz kehrt ein angeregtes Elektron aus einem angeregten Singulett-Energielevel innerhalb weniger Nanosekunden (Größenordnung: 10^{-9} bis 10^{-7} s) in einen energieniedrigeren Zustand, unter Aussendung eines Photons, zurück. In Abbildung 4 ist dieser Prozess mit einem grünen Pfeil veranschaulicht. Während des Fluoreszenzvorgangs bleibt die Multiplizität erhalten. Bei der Phosphoreszenz findet die Emission (oranger Pfeil) mit einer Spinnkehr (ISC, engl.: „*intersystem crossing*“) statt. Der ISC ist ein Übergang zwischen Singulett- und Triplett-Energieleveln (hellgrüner Pfeil). Im Vergleich zur Fluoreszenz kann die Lebensdauer der Phosphoreszenz dabei Sekunden oder gar Stunden andauern. Wenn die Anregungsenergie in Schwingungsenergie umgewandelt wird, wird dieser Prozess als interne Konversion (IC, engl.: „*internal conversion*“; dunkelgrüner Pfeil) bezeichnet. Die IC findet in einer Größenordnung von wenigen Pikosekunden statt (10^{-12} s). Die Prozesse ISC und IC finden isoenergetisch statt.^[82, 84]

Dahingegen wird bei der strahlungslosen Desaktivierung die absorbierte Energie in Rotations-, Schwingungs- oder Translationsenergie umgewandelt. Oftmals ist die Wellenlänge der Emission im Gegensatz zur Anregungswellenlänge größer und somit energieärmer, da im Laufe des Emissionsprozesses aufgrund der oben genannten Gründe ein Energieverlust einhergeht. Dieses Phänomen wird als Stokes-Verschiebung bezeichnet und ist mit einer Rotverschiebung bzw. einer bathochromen Verschiebung der Energie gekennzeichnet.^[82]

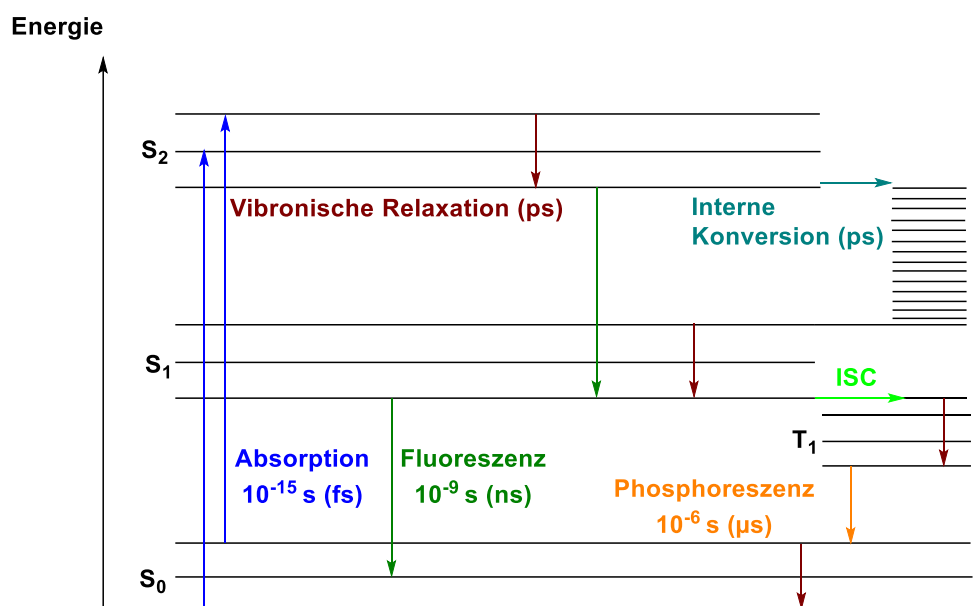


Abbildung 4: Veranschaulichung der elektronischen Übergänge in einem Jablonski-Diagramm. Dargestellt sind die möglichen Relaxationspfade eines Molekül nach Anregung und deren charakteristische Lebensdauern. S_x : Singulettzustände, T_1 : Triplettzustand, ps: Pikosekunde, fs: Femtosekunde, ns: Nanosekunde, μ s: Mikrosekunde und ISC, engl.: „intersystem crossing“.^[82-83]

1.6 Fluoreszenzfarbstoffe für biomedizinische Applikationen

1.6.1 Wichtige Farbstoffklassen in der Medizin

Heutzutage finden Farbstoffe mit ihren fluoreszenten Eigenschaften Einsatz in vielen unterschiedlichen Anwendungsgebieten. So werden sie beispielsweise vielseitig in der Lebensmittelbranche, Textil-, Pigment- oder Lackindustrie, organischen Elektronik als organische Leuchtdioden (OLED) und vor allem für biologische Anwendungen eingesetzt. Die meisten Farbstoffe können unterteilt werden in anorganische- und organische Farbstoffklassen. Zudem gibt es auch auf Proteine basierende Farbstoffe wie das grün fluoreszierende Protein (GFP). Zunehmende Bedeutung für biologische Anwendungen gewinnen in den letzten Jahren lumineszente Materialien wie Nanopartikel oder Quantumdots.^[84-86] Im Rahmen dieser Arbeit liegt der Hauptfokus jedoch auf den organischen Farbstoffklassen.

Für biomedizinische Einsatzfelder werden die Fluoreszenzfarbstoffe für die Detektion und Färbung von biologischen Bestandteilen wie Zellen, Zellbestandteilen wie Mitochondrien oder Lysosomen oder auch bestimmten proteinogenen Molekülen verwendet.^[87-89] Außerdem können, anhand dieser Farbstoffe, Informationen über die physikochemische Umgebung von Zellen oder dem Gewebe erhalten werden.^[90] Ein weiteres Anwendungsbeispiel von

Fluoreszenzfarbstoffen ist die Markierung und Sichtbarmachung von molekularen Prozessen für die Echtzeitanalyse oder zur Detektion von Biomolekülen.^[91-92]

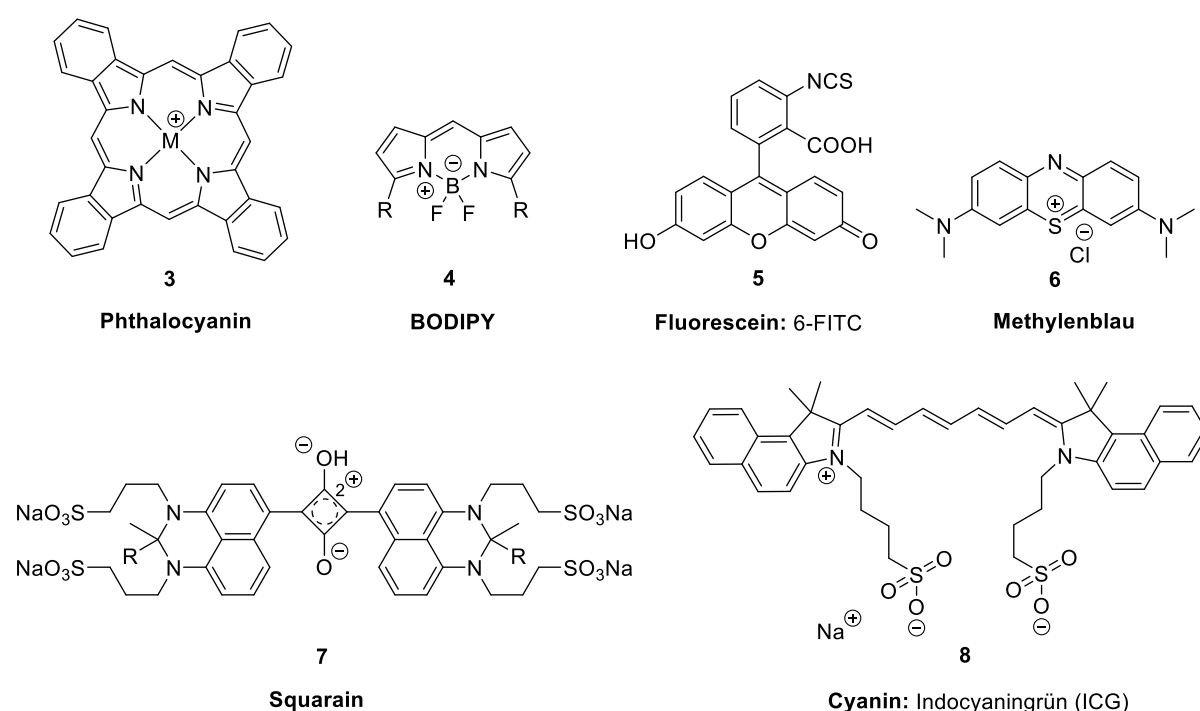
Es gibt zahlreiche Voraussetzungen, die Fluoreszenzfarbstoffe erfüllen müssen, um sie für biomedizinische Anwendungen im lebenden Organismus einsetzen zu können. Optimalerweise sollten die Farbstoffe Absorptions- und Emissionseigenschaften im klinisch-relevanten Nahinfrarotbereich (NIR) besitzen. Dieses sogenannte optische Fenster umfasst die Absorptions- und Emissions-Wellenlängen im Bereich zwischen 700 nm bis 1000 nm.^[73-75, 93] In diesem Wellenlängenbereich besitzt Nahinfrarotlicht gegenüber dem Gewebe eine hohe Transparenz. Der Grund hierfür ist, dass das NIR-Licht von Biomolekülen, wie Melanin, DNA, Lipiden oder auch Hämoglobin, nur geringfügig absorbiert und diese Moleküle somit vergleichsweise geringe Absorptionskoeffizienten im NIR- bzw. klinischen NIR-Bereich besitzen.^[55, 71, 73-75, 94-96] Somit können die Fluoreszenzfarbstoffe selektiv im optischen Fenster angeregt und die entstehenden Photonenemissionen gemessen und nachfolgend analysiert werden. Außerdem ist langwellige Strahlung besonders im NIR-Bereich (>700 nm) gewebeschonend, dagegen können kürzere Wellenlängen und somit höhere Strahlungsenergien die Zellen schädigen und ihre Funktionen irreversibel beeinträchtigen.^[15, 55, 71]

Ein weiterer wichtiger Faktor für biologisch relevante Farbstoffe ist eine große Stokes-Verschiebung, damit eine Fluoreszenzlöschung vermieden und entstehendes Streulicht, welches zu Messfehlern führen kann, verhindert werden kann.^[97-98] Idealerweise sollten die NIR-Farbstoffe zusätzlich große Extinktionskoeffizienten im Bereich von Charge-Transfer-(MLCT/LMCT)Komplexen ($>100.000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) mit hohen Quantenausbeuten aufweisen.^[99-100] Des Weiteren sollten organische Fluoreszenzfarbstoffe photostabil sein und kaum Lichtstreuung verursachen, damit sie für biologische Zwecke verwendet werden können. Es ist ebenfalls wichtig, dass die Farbstoffe eine hohe Wasserlöslichkeit aufweisen, um eine Selbstaggregation im wässrigen Medium zu verhindern bzw. zu minimieren.^[93, 100] Weitere ausschlaggebende Faktoren bei der Herstellung von Fluoreszenzfarbstoffen sind der Glanz („*brightness*“) und hohe chemische und physische Stabilitäten im lebenden Organismus. Zudem sollte die Veränderung der pharmakokinetischen Eigenschaften bei Einsatz der Farbstoffe in Kombination mit targetspezifischen Molekülen möglichst marginal sein.^[93, 100] Daher ist der Einsatz von niedermolekularen Fluoreszenzfarbstoffen („*small molecules*“) von Vorteil, da diese aufgrund ihres kleinen Molekulargewichtes einen geringen Einfluss auf die pharmakokinetischen Eigenschaften des Pharmakons versprechen.^[69, 101] Diese unterschiedlichen Faktoren und Voraussetzungen müssen bei der Entwicklung von neuen Fluoreszenzfarbstoffen für biologische Anwendungszwecke berücksichtigt werden.

Die heutzutage bekannten organischen Farbstoffe besitzen für biomedizinische Anwendungen limitierte Eigenschaften, die für *in vivo* Anwendungen unzulässig sind. So

zeichnen sich die nachfolgenden und traditionellen organischen Farbstoffe vor allem mit geringer Löslichkeit in Wasser, begrenzten optischen Eigenschaften wie geringe Quantenausbeuten und niedrige molare Extinktionskoeffizienten im wässrigen Medium, aber auch mit geringen Photostabilitäten aus. Diese wesentlichen Nachteile und Problematiken führen zu einer überschaubaren kleinen Anzahl an organischen Fluoreszenzfarbstoffen mit idealen Eigenschaften für biomedizinische Applikationen.^[93, 100]

In Schema 2 sind die wichtigsten und bekanntesten Fluoreszenzfarbstoffe aufgezeigt, welche für medizinische Zwecke genutzt werden. Zu den am häufigsten verwendeten Farbstoffen gehören die Phthalocyanine **3**, BODIPYs **4**, Fluorescein- **5**, Methylenblau- **6**, Squarain- **7** oder Cyanin-Farbstoffe **8** (Schema 2).^[102]



Schema 2: Prominente organische Farbstoffklassen für biologische Anwendungen. Allgemeine Struktur von Phthalocyaninen **3** mit einem koordinierten Metallion M^+ . Der BODIPY-Farbstoff **4** (englisch: borondipyrromethane). Das Fluorescein-Derivat 6-FITC **5** und Methylenblau **6**. Der Squarain-Farbstoff **7** und das Indocyaningrün **8** als Cyaninfarbstoff.

Fluoreszenzfarbstoffe wie die Phthalocyanine **3** sind mit ihren 18π -Elektronen klassische Hückel-Aromaten und zählen zu den zweidimensionalen Porphyrinen. Sie besitzen vier Donor-Stickstoffatome, die jeweils durch Kohlenstoffketten verbunden sind. Als Ligand besitzen die Phthalocyanine Koordinationstellen für weit über 70 Metalle. Die Möglichkeit zur Derivatisierung solcher Farbstoffe führt zur Feinabstimmung von elektronischen und optischen Eigenschaften. Des Weiteren zeichnen sich diese Farbstoffe durch hohe chemische Beständigkeit aus.^[93, 100]

Zunehmende Bedeutung gewinnen in der heutigen Zeit die sogenannten niedermolekularen BODIPY-Farbstoffe (engl.: „*borondipyrrromethane*“, **4** in Schema 2) Die Abkürzung steht für 4,4'-Difluor-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen und ist basierend auf der Indacen-Struktur, welche zusätzlich ein tetraedrisches Bor-Zentrum enthält. Seit ihrer Entdeckung im Jahr 1968 wurden die BODIPYs an unterschiedliche Targetmoleküle (z.B. Bombesin- oder PSMA-Liganden) geknüpft und fanden somit Anwendung für die targetspezifische Tumorbildgebung.^[103-106] Seitdem sind zahlreiche Modifikationen der BODIPY-Farbstoffe bekannt, deren optische Eigenschaften sich bis zum Nahinfrarotbereich feinabstimmen lassen. Die Einführung von Sulfonatgruppen kann die Wasserlöslichkeit erheblich steigern. Es sind zahlreiche BODIPY-Farbstoffe mit hohen Quantenausbeuten vor allem in organischen Lösungsmitteln bekannt.^[107-110]

Die niedermolekularen Farbstoffe Fluorescein **5** (6-FITC) und Methylenblau **6** werden ebenfalls für biologische Anwendungen genutzt. Fluorescein-Derivate besitzen optische Eigenschaften im sichtbaren Wellenlängenbereich mit sehr hohen Quantenausbeuten vor allem in organischen Lösungsmitteln.^[99] Mit einer Isocyanatgruppe können diese Farbstoffe möglichst einfach an Aminosäuren bzw. an Peptide geknüpft werden.^[111] Dahingegen besitzt das für einige Anwendungen, von der FDA- und der Europäischen Arzneimittelbehörde (EMA), zugelassene Methylenblau Absorptions- und Emissionseigenschaften im Nahinfrarotbereich und wird u.a. zur Wächterlymphknotenmarkierung hinzugezogen.^[102] Neuerdings wird Methylenblau eine übergeordnete Rolle zur Therapie von COVID-19 Virusinfektionen zugesprochen.^[112-113]

Die Fluoreszenzfarbstoffe der Squaraine (**7**, Schema 2) besitzen einen Oxocyclobutenenolat-Vierring, welcher als Quadratsäure-Einheit und somit einer Zwitterionenstruktur aufgebaut und mesomeriestabilisiert ist. Diese Eigenschaft verleiht dem Farbstoff eine hohe Stabilität. Außerdem lassen sich die photostabilen Squaraine, welche seit 1965 bekannt sind, problemlos in Nahinfrarotfarbstoffe modifizieren.^[114-115] Nachteilig für Squarain-Farbstoffe sind eine erhöhte Lipophilie und eine erhöhte Tendenz im wässrigen Medium Aggregate zu bilden. Deshalb besteht eine große Herausforderung darin, wasserlösliche Squarain-Farbstoffe darzustellen.^[116]

Eine für biomedizinische Anwendungen ebenfalls wichtige Farbstoffklasse sind die Cyanin-Farbstoffe, wie beispielsweise das kommerziell erhältliche Indocyaningrün (ICG) **8**, welches bereits wie das Methylenblau durch die FDA zugelassen wurde. Diese Substanzklasse gehört zu den Polymethinfarbstoffen. Allgemein lassen sich die Cyanin-Farbstoffe als zwei verbrückende Stickstoffatome beschreiben, die durch konjugierte cyclische oder acyclische Polyene mit einer ungeraden Anzahl an Methingruppen (=C-H) miteinander verbunden sind (**8** in Schema 2). Dabei bestimmt die Länge der konjugierten Kohlenstoffkette die elektronischen und optischen Eigenschaften des Fluoreszenzfarbstoffs. Während dabei ein

Stickstoffatom als Elektronenakzeptor fungiert, dient das andere Stickstoffatom als Elektronendonator. Folglich können durch die Erweiterung des konjugierten π -Systems optische Eigenschaften im Wellenlängenbereich bis zu 1000 nm erreicht und molare Absorptionskoeffizienten über $200.000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ erzielt werden.^[93, 100, 117-118] Der ICG-Farbstoff wird vornehmend in der Fluoreszenz-gestützten Resektion von Tumoren oder in der Ophthalmologie für Augenbehandlungen verwendet und besitzt Absorptionen und Emissionen zwischen 750 und 800 nm.^[75, 80-81, 100, 102] Generell zeichnen sich Cyanine durch hohe Photostabilitäten und sehr hoher Extinktionskoeffizienten aus. Jedoch besitzt der ICG-Farbstoff eine Quantenausbeute im wässrigen Medium von 0.3% bzw. 1.2% in Blut.^[119]

Die photophysikalischen Eigenschaften der genannten Fluoreszenzfarbstoffklassen können, mithilfe der Einführung von bestimmten Substituenten wie Sulfonat- und Carboxylgruppen, Halogeniden und aromatischen Systemen usw. entscheidend verändert und für die jeweilige Applikation feinabgestimmt werden.^[93]

Die Entwicklung der Fluoreszenzfarbstoffe ist von besonderer Bedeutung für die zielgerichtete Detektion und Markierung von Biomolekülen, Gewebe und Tumoren. Aus diesem Grund müssen die Farbstoffe dementsprechend funktionalisiert werden, um eine möglichst hohe Anreicherung im Zielorganell oder Gewebe zu erreichen. Für diese Art der biomedizinischen Anwendungen sind in den letzten Jahren die Substanzklassen der Rhodamine in den Vordergrund gerückt.

1.6.2 Die Farbstoffklasse der Rhodamine

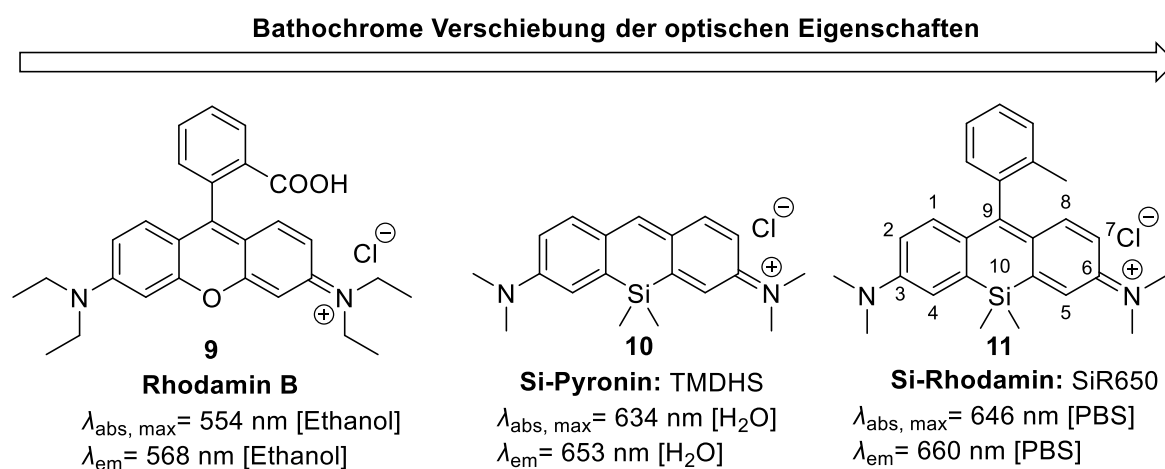
Die Rhodamin-Farbstoffe werden, analog zu den Fluorescein-Farbstoffen, zur Familie der Xantheme gezählt (**5** in Schema 2). Die bekanntesten Vertreter der Rhodamine sind Rhodamin B (Schema 3, **9**) und Rhodamin 101.^[120] Nach Entdeckung durch den Schweizer Chemiker Maurice Ceresole im Jahr 1887 werden die Rhodamine und ihre Derivate vielfältig eingesetzt.^[121] So werden Rhodamine heutzutage beispielsweise in Farbstofflasern, als Referenz zur Bestimmung der Quantenausbeuten, als Photosensibilisatoren oder zur Markierung von Zellbestandteilen wie Lysosomen oder Mitochondrien in lebenden Zellen genutzt.^[122-124] Wie bereits erwähnt, ist die Nutzung dieser Farbstoffe zur selektiven Detektion von Biomolekülen oder zur Anreicherung der Rhodamine als Farbstoffkonjugate in Tumorgewebe von besonderem Vorteil.^[123, 125]

Analog zu den bisher genannten Fluoreszenzfarbstoffen zeichnen sich Rhodamine durch eine akzeptable Hydrophilie, hohen Quantenausbeuten, exzellenter Photostabilität und hohen molaren Extinktionskoeffizienten aus.^[123, 126]

Vorteilhaft für die Rhodamine erweist sich, dass durch die simple Einführung von funktionellen Gruppen wie beispielsweise Carbonsäuren, Sulfonate oder Halogenide die optischen

Eigenschaften maßgeschneidert verändert und für ihre jeweiligen Anwendungsgebiete angepasst werden können. Diese Möglichkeit der Derivatisierung bringt eine hohe Zahl an neuen Rhodaminen hervor. Die traditionellen Rhodamine besitzen überwiegend optische Eigenschaften im sichtbaren Wellenlängenbereich zwischen 500 nm und 600 nm mit erhöhter Tendenz zur Autofluoreszenz und geringer Durchdringungseigenschaften im Gewebe.^[123, 127] Im Bezug zu den biologischen Anwendungen der klassischen Rhodamine ist es nachteilig, dass ihre optischen Eigenschaften im sichtbaren Wellenlängenbereich unter 600 nm liegen und somit der Einsatz für biologische Anwendungen limitiert ist.^[123, 127]

Dieser Umstand führte dazu, dass die Entwicklung von neuen Rhodaminen mit optischen Eigenschaften im Nahinfrarotbereich vorangetrieben und neue Veröffentlichungen in diesem Feld publiziert wurden. Hinsichtlich des Rhodamin-Gerüsts stand vor allem die Substitution des Sauerstoffs an Position 10 durch andere Hauptgruppenelementen im Fokus (Schema 3). Schließlich konnte die Gruppe um Fu *et al.* im Jahr 2008 wichtige Vorarbeiten zur bathochromen Verschiebung der optischen Eigenschaften von Rhodaminen leisten, indem das in Position 10 befindliche Sauerstoffatom des Pyronins durch eine Dimethylsilyl-Gruppe ersetzt wurde (Schema 3, **11**). Im Vergleich zum Sauerstoffanalogon des Pyronins führt dieser Schritt zu einer bathochromen Verschiebung der optischen Eigenschaften bis zu 90 nm.^[128]



Schema 3: Fluoreszenzfarbstoffe der Xanthere, deren maximale Absorptions- und Emissionswellenlängen und der Einfluss der Einführung der Dimethylsilyl-Gruppe auf die optischen Eigenschaften. Chemische Struktur des Rhodamin B **9**, Silizium-Pyronin TMDHS **10** (2,7-*N,N,N',N'*-Tetramethyl-9-dimethyl-10-hydro-9-silaanthracen) als Leitstruktur der Silizium-Rhodamine und das Silizium-Rhodamin SiR650 **11** mit Nummerierung der Kohlenstoffatome des Xanthen-Gerüsts.^[128-132]

Nach Vorstellung entsprechender Silizium-Fluorescein-Derivate wurden ab 2011 schließlich die Silizium-Rhodamine (Si-Rhodamine) von Koide und Egawa *et al.* mit Absorptions- und

Emissionsmaxima zwischen 640 nm und 660 nm präsentiert. Die Absorptionen und Emissionen der Si-Rhodamine reichen bis zum NIR-Spektralbereich (>750 nm).^[131-133]

Aus Schema 3 wird anhand von Rhodamin B **9**, dem Silizium-Pyronin TMDHS **10** und dem Silizium-Rhodamin **11** ersichtlich, inwiefern die Einführung von Siliziumverbindungen die optischen Eigenschaften beeinflusst. So kann von Rhodamin B **9** zum Silizium-Rhodamin **11** eine beachtliche bathochrome Verschiebung der optischen Eigenschaften bis zu 100 nm erreicht werden.^[128-132] Nach Entdeckung der Si-Rhodamine wurden zahlreiche neue Si-Rhodamine mit einzigartigen optischen Eigenschaften veröffentlicht.^[134-135] Analog zu den Eigenschaften der traditionellen Fluoreszenzfarbstoffe besitzen Si-Rhodamine ebenfalls hohe Quantenausbeuten und Extinktionskoeffizienten verbunden mit hoher Photostabilität und geeigneter Wasserlöslichkeit.^[131-132]

Der Grund für die bathochrome Verschiebung der optischen Eigenschaften ist ein resultierender geringer Energieunterschied zwischen der am höchsten besetzten Molekülorbitale (HOMOs, engl.: „*highest occupied molecular orbitals*“) und der am niedrigsten unbesetzten Molekülorbitale (LUMOs, engl.: „*lowest unoccupied molecular orbitals*“) des konjugierten π -Systems nach Inkorporation des Silizium-Organyls im Rhodamin-Gerüst. Laut theoretischer Rechnungen wechselwirken die exo-ständigen Bindungen der Silan-Dimethylgruppen und deren σ^* -Orbitale im Si-Rhodamin **11** mit dem π^* -Orbital des konjugierten Systems vom Xanthen-Gerüst. Hieraus resultiert eine energetische Erniedrigung des LUMOs, wodurch der energetische Abstand zum HOMO abnimmt und dies zur Verschiebung der optischen Eigenschaften in den langwelligen und somit rotverschobenen Spektralbereich führt. So können letzten Endes Absorptionen und Emissionen der Si-Rhodamine im NIR-Bereich erzielt werden.^[132, 135-136]

Seit der Entdeckung der NIR-Eigenschaften in Si-Rhodaminen sind zahlreiche verwandte Vertreter bekannt, in denen die Position 10 durch unterschiedliche Hauptgruppenelemente ersetzt wurden. So wurde das Silizium bereits durch Bismut, Phosphor, Kohlenstoff, Schwefel, Selen, Tellur, Germanium oder Zinn substituiert und anschließend wurden ihre optischen Eigenschaften untersucht.^[128-135, 137-147] Eine Übersicht der optischen Eigenschaften aller verwandten Rhodamine in wässrigen Lösungen sind in Tabelle 2 dargestellt.

Aus Tabelle 2 wird ersichtlich, dass die größten Rotverschiebungen der optischen Eigenschaften durch Si-Rhodamine entstehen und sich bis zu einem Spektralbereich bei 700 nm erstrecken und feinabstimmen lassen. Außerdem sind in Schema 5 die chemischen Strukturen der Rhodamin-Familie in Abhängigkeit ihrer optischen Eigenschaften dargestellt. Zum direkten Vergleich sind auch die kanonischen Aminosäuren *L*-Tryptophan **12**, *L*-Tyrosin **13** und *L*-Phenylalanin **14** aufgeführt, welche ihre Absorptions- und Emissionseigenschaften im Ultraviolettbereich aufweisen.^[148-149]

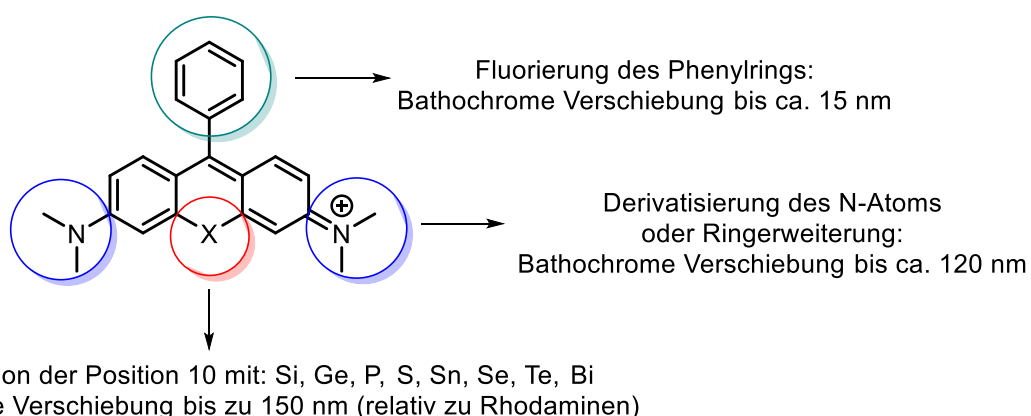
1. Theoretischer Teil

Tabelle 2: Überblick der optischen Eigenschaften der unterschiedlichen Derivate innerhalb der Rhodamin-Familie.

Farbstoff	(Hetero)atom in Position 10	Solvent	λ_{abs} [nm]	ϵ_{max} [$\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$]	λ_{em} [nm]	Φ_{F}
TMDHS ^[128] 10	Silizium	H ₂ O	634	64.191	653	0.18
SiR650 ^[131] 11	Silizium	PBS	646	110.000	660	0.31
SiR720 ^[132] 19	Silizium	PBS	721	160.000	740	0.05
CMe ₂ R ^[140] 15	Kohlenstoff	HEPES	552	65.000	577	0.64
BiR ^[144] 18	Bismut	HEPES	635	77.600	658	0.04
RF ₆₂₀ ^[145] 22	Bor	PBS	620	109.000	636	0.36
Me-PR ^[142] 20	Phosphor	PBS	694	92.000	712	0.11
SO ₂ R ₂ ^[143] 23	Schwefel	H ₂ O	703	95.000	742	0.07
TMR-Se ^[137, 141] 17	Selen	MeOH	581	44.000	608	0.01
1-Te ^[138-139, 141] 21	Tellur	H ₂ O	597	74.000	-	0.01
GeR ^[131] 24	Germanium	PBS	635	-	649	0.34
SnR ^{[131]*}	Zinn	-	-	-	-	-

*Aufgrund der hohen Instabilität des Zinn-Rhodamins SnR konnten keine optischen Eigenschaften bestimmt werden.^[131]

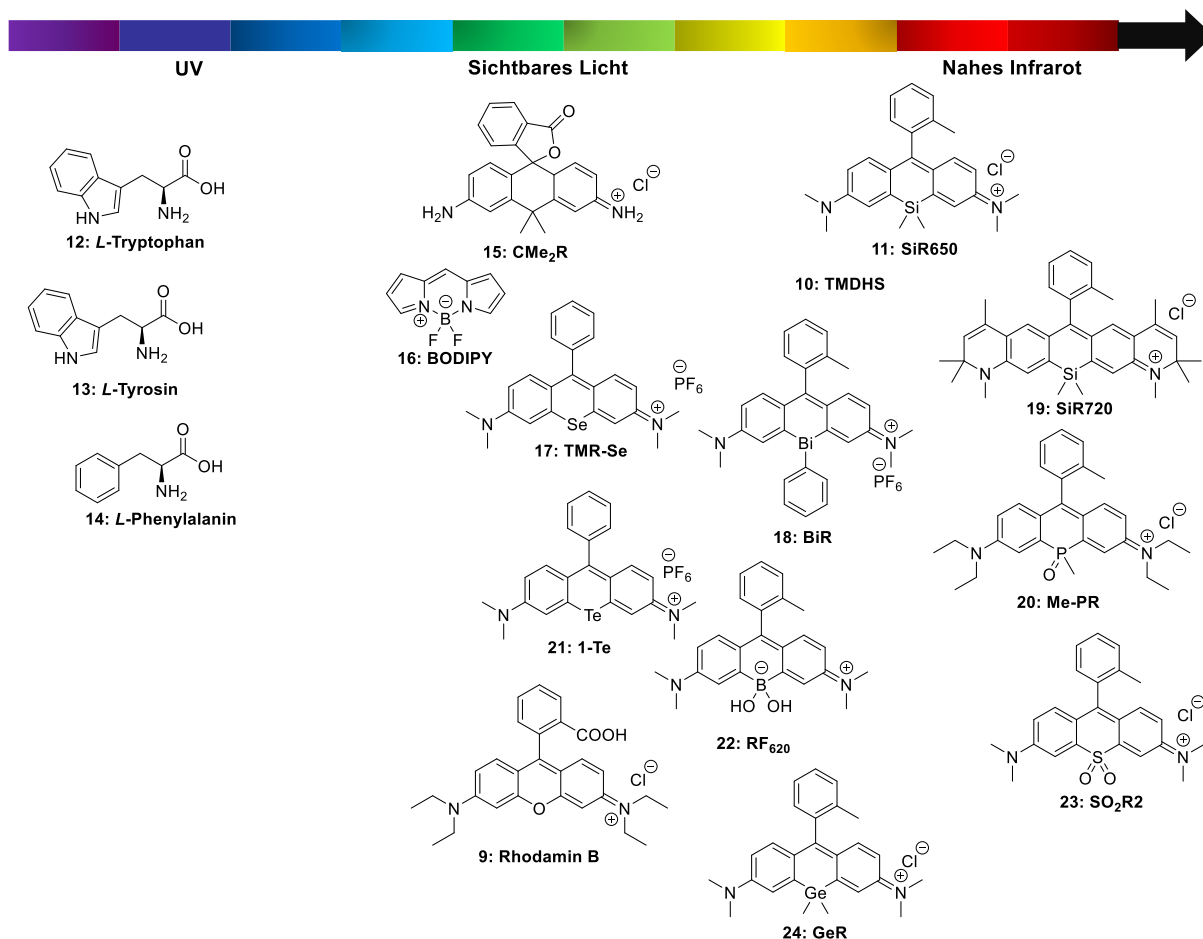
Die Auswirkungen von Funktionalisierungen auf die optischen Eigenschaften am Rhodamin-Grundgerüst sind in Schema 4 dargestellt.



Schema 4: Der Einfluss der Modifikation eines Rhodamin-Grundgerüsts auf die Absorptions- und Emissionseigenschaften.^[135, 146]

Demnach werden die größten bathochromen Verschiebungen der optischen Eigenschaften durch Substitution von Position 10 durch die erwähnten Hauptgruppenelemente erzielt (rot dargestellt). Dabei können im Vergleich zum traditionellen Rhodamin Rotverschiebungen bis zu 150 nm erreicht werden. Zusätzlich führt die Derivatisierung der beiden Aminogruppen

beispielsweise durch eine Alkylkettenverlängerung oder einer Ringerweiterung ebenfalls zu einer großen Rotverschiebung der optischen Eigenschaften bis zu 120 nm (blau dargestellt). Die Funktionalisierung des Phenylrings führt lediglich zu einem weniger beeinflussbaren Effekt auf die optischen Eigenschaften des Rhodamins (grün dargestellt).^[135, 146]



Schema 5: Überblick über verschiedene Fluoreszenzfarbstoffe der Rhodamin-Familie, BODIPY **16** und ihre Zuordnung in das elektromagnetische Spektrum.^[108, 126, 128-146] Zum Vergleich sind auch die fluoreszenten und kanonischen Aminosäuren *L*-Tryptophan **12**, *L*-Tyrosin **13** und *L*-Phenylalanin **14** dargestellt.^[148-149]

Die drei wichtigsten Darstellungsmöglichkeiten von Si-Rhodaminen sind in Schema 6 gezeigt. Die modernste und effizienteste Darstellungsmethode von Si-Rhodaminen wurde im Jahr 2017 unabhängig von den Gruppen um Grimm und Fischer *et al.* eingeführt (Schema 6a).^[150-151]

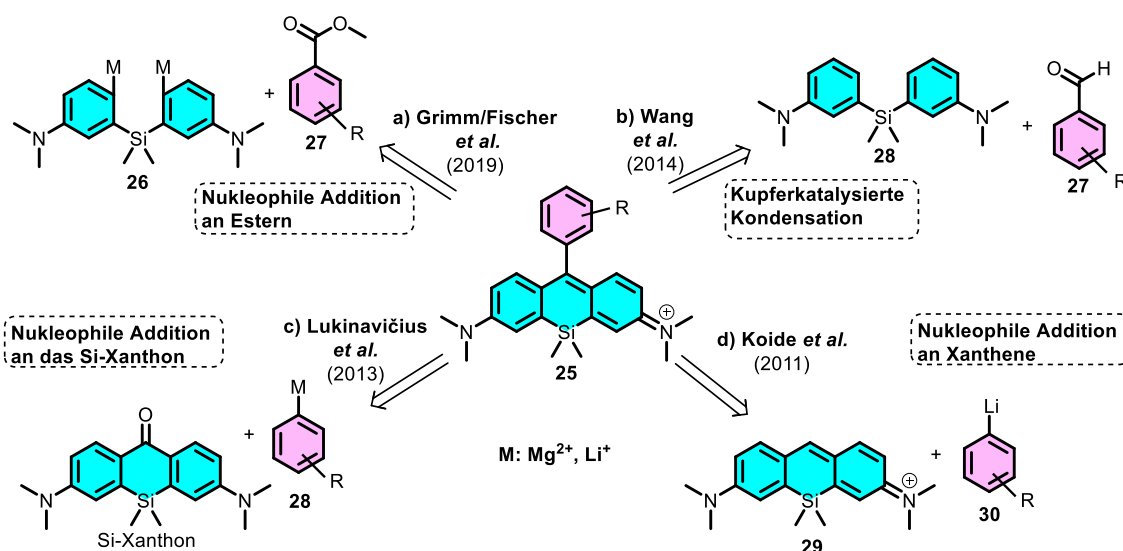
Demnach werden ausgehend von elektronenreichen Bis-2-Bromophenylsilanen (wie z.B. **26**) in einem Halogen-Metall-Austausch ein zweifach-metalliertes Nucleophil mit elektrophilen Carbonsäureestern umgesetzt. Dabei kann der Halogen-Metall-Austausch durch Magnesium und somit als Grignard-Verbindung oder auch als lithiierte Verbindung erzielt werden. Nach

einer sauren Aufarbeitung werden Si-Rhodamine mit chemischen Ausbeuten bis zu 90% erhalten.^[150-151]

Eine Alternative zur Herstellung von Si-Rhodaminen ist die direkte kupferkatalysierte Kondensation von Benzaldehyden mit Diarylsilanen (wie z.B. **28**), unter drastischen Bedingungen mit Temperaturen bei 140 °C, entwickelt von der Gruppe um Wang *et al.* (Schema 6b). Allerdings konnten hier lediglich Ausbeuten von etwa 50% erzielt werden.^[152]

Die bekannteste Methode zur Darstellung von Si-Rhodaminen wurde im Jahr 2011 von Koide *et al.* und ab 2012 von Lukinavičius *et al.* veröffentlicht (Schema 6c/6d).^[131, 153]

Gemeinsam haben beide Synthesestrategien dabei, dass ein substituiertes Arylhalogenid zu einer Organolithiumverbindung umgesetzt und danach an ein Silizium-Xanthon (Schema 6c) oder an ein Silizium-Xanthen (Schema 6d) addiert wird. Schließlich wird nach saurer Aufarbeitung ein Si-Rhodamin erhalten. Diese Vier- oder Fünfschritt-Methoden ermöglichen den Zugang zu mehrfach-substituierten Si-Rhodaminen mit akzeptablen Ausbeuten und versprechen eine Toleranz gegenüber vielen funktionellen Gruppen.^[135, 147, 153-155]

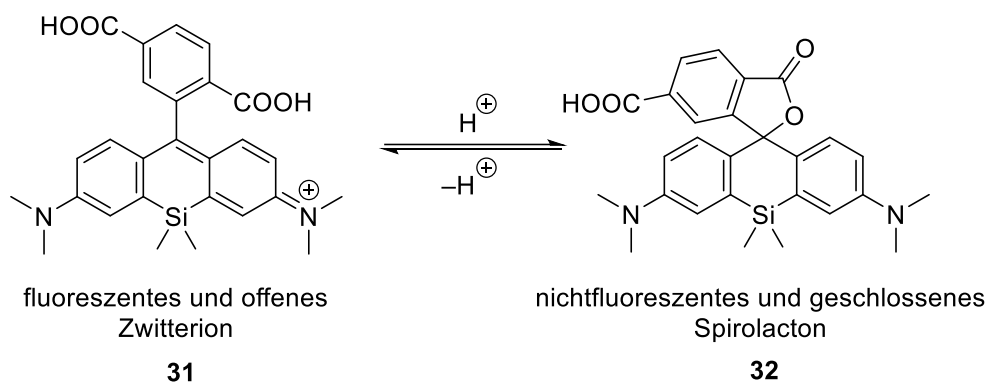


Schema 6: Bekannte Möglichkeiten zur Darstellung von Si-Rhodaminen unter Zuhilfenahme von Grignard-Verbindungen und Lithium-Organyle. A) Umsetzung mit elektronenreichen Silanen und elektrophilen Carbonsäureestern nach Grimm und Fischer *et al.* b) Kupfer-katalysierte Kondensationsreaktion von Silanen mit Aldehyden und c)/d) Nucleophile Additions- und Eliminierungsreaktion von metallierten Nucleophilen an Si-Xanthonen bzw. Si-Xanthenen nach Lukinavičius und Koide *et al.*^[131, 150-153]

Die Einführung von funktionellen Gruppen in das Si-Rhodamin ist essentiell für eine aktive Anreicherung in speziellen Zellen oder Gewebe, da erst dann die entsprechend funktionalisierten Si-Rhodamine mit verschiedenen Targetvektoren versehen werden können. Aus diesem Grund müssen die Farbstoffe durch Einführung von bestimmten funktionellen

Gruppen wie beispielsweise Amino- oder Säuregruppen zum aktiven Targeting verfügbar gemacht werden.

Ein bestimmtes Phänomen, welches *ortho*-Carbonsäure-substituierte Rhodamine aufweisen, ist die Präsenz eines Gleichgewichts zwischen einer offenkettigen und geschlossenen Form des Rhodamins.^[156-157] Dieser Effekt ist in Schema 7 dargestellt und wurde für Si-Rhodamine erstmals durch die Gruppe um Wang *et al.* im Jahr 2011 bekannt und danach von Lukinavičius *et al.* ausführlich untersucht.^[153, 158]



Schema 7: pH-abhängiges chemisches Gleichgewicht zwischen der fluoreszenten zwitterionischen Si-Rhodaminstruktur **31** und dem nicht-fluoreszenten lactonartigen Si-Rhodamin **32**.^[153]

Demnach besteht zwischen dem offenkettigen und fluoreszenten Zwitterion **31** und dem geschlossenen und nicht-fluoreszenten Si-Rhodamin **32** ein pH-abhängiges chemisches Gleichgewicht. Während im wässrig-sauren Milieu die offenkettige Form überwiegt, tritt im basischen Milieu eher das nicht-fluoreszente Spirolacton auf, welches durch eine intramolekulare Zyklisierung entsteht. Dieses Phänomen kann in *in vitro* Experimenten zur Detektion und Identifizierung von lebenden Zellen genutzt werden, da das ungeladene Spirolacton **32** eine erhöhte Zellpermeabilität aufweist und somit nach Zelleintritt im sauren Milieu in die offenkettige zwitterionische Form überführt und an ein geeignetes Target wie beispielsweise Rezeptormoleküle oder Proteine gebunden werden kann. Durch die Überführung in die zwitterionische Struktur entsteht das erweiterte konjugierte π -System, welches wiederum zu Fluoreszenzsignalen führt. Die entstehende Fluoreszenz kann nun durch hochauflösende Instrumente wie beispielsweise STED oder Konfokalmikroskopie bildlich dargestellt werden. Des Weiteren senkt der geschickte Einsatz des chemischen Gleichgewichts die Tendenz zur unspezifischen Bindung an Zellen und vermindert die Wahrscheinlichkeit von Hintergrundsignalen.^[153, 159]

1.7 Die bimodale Bildgebung – Kombination von nuklearmedizinischer und optischer Bildgebung

In Abschnitt 1.4 wurden die bildgebenden Verfahren der Nuklearmedizin wie PET und SPECT, aber auch die optische Bildgebung beschrieben. Im Folgenden ist eine Übersicht über die in dieser Arbeit thematisierten bildgebenden Verfahren und deren charakteristischen Eigenschaften aufgezeigt (Tabelle 3).

Tabelle 3: Überblick der Eigenschaften der molekularen Bildgebungsmethoden: Positronen-Emissions-Tomographie (PET), Einzelphotonen-Emissions-Computertomographie (SPECT), und optische Bildgebung (OI).^[15, 70, 77, 160]

	PET	SPECT	OI
Ionisierende Strahlung (aufgrund von radioaktivem Zerfall)	vorhanden	vorhanden	nicht vorhanden
Kosten	Sehr hoch	Hoch	niedrig
Detektion der Energie	Gammaphotonen im 511 keV-Bereich durch Annihilation	Gammaphotonen von 100–250 keV durch Gammaemitter	400–1500 nm
Zeitliche Auflösung	<300 s	60-2000 s	10–2000 s
Ortsauflösung	5–7 mm	8–10 mm	µm-Bereich
Sensitivität	10^{-11} bis 10^{-12} M	10^{-10} bis 10^{-11} M	10^{-9} bis 10^{-11} M
Gewebepenetration	<30 cm	<30 cm	1–2 cm
Eingesetzte Substanzmenge zur Detektion	pM/nM-Bereich	pM-Bereich	nM-Bereich

Im Allgemeinen kommen für die nuklearmedizinische Bildgebung Radiopharmaka zum Einsatz, während in der optischen Bildgebung Fluoreszenzfarbstoffe eingesetzt werden. Im Vergleich sind die Kosten für die Beschaffung und Nutzung der nuklearmedizinischen Bildgebungsverfahren (PET/SPECT, Hybridgeräte wie PET/CT, PET/MRT, SPECT/CT) verbunden mit dem Betrieb eines Zyklotrons mit angeschlossener Radiopharmazie um ein Vielfaches höher als die Verwendung von optischen Bildgebungstechniken.^[161-162] Des Weiteren ist die geringe Ortsauflösung im Millimeterbereich der nuklearmedizinischen Verfahren ein wesentlicher Nachteil. Trotzdem versprechen die nuklearmedizinischen Verfahren als Ganzkörperuntersuchungsmethode die Detektion von Gammaphotonen aus dem Zerfall der jeweiligen Radionuklide mit höchster Sensitivität. Zudem werden dem

Patienten für PET oder SPECT-Messungen nur Kleinstmengen im nano- bis pikomolaren Bereich verabreicht, um aussagekräftige Informationen der Pharmaka im Körper zu treffen und anschließend geeignete Behandlungsmethoden zu wählen. Dagegen ist die optische Bildgebung weniger sensitiv und es müssen dem Patienten Substanzmengen in mikromolaren oder sogar millimolaren Größenordnungen, in Abhängigkeit von der jeweiligen Applikationen, verabreicht werden. Zudem ist die Detektion der Fluoreszenz auf lediglich eine bestimmte Position des Patienten limitiert, sodass derzeit keine Ganzkörperuntersuchungen möglich sind. Darüber hinaus ermöglicht die geringe Eindringtiefe der Lichtquelle eine bedingte Gewebepenetration.^[163-164]

Trotz dieser Nachteile kann die optische Bildgebung in Kombination mit der Fluoreszenz-gestützten Chirurgie zur eindeutigen Tumoridentifikation mit anschließender Tumorresektion genutzt werden.^[70, 160, 165]

Da die jeweiligen Bildgebungsverfahren sowohl Vorteile als auch Nachteile besitzen, ist der Zusammenschluss aus mehreren Bildgebungstechniken zu einem Hybridsystem sehr effektiv, da somit die Vorteile aus den einzelnen Bildgebungsverfahren aufsummiert und die Nachteile der einzelnen Verfahren durch diese Kombination ausgeglichen werden können.^[70] Folglich ist die Kombination aus einem Radiopharmakon bzw. einem Radionuklid und einem Fluoreszenzfarbstoff im selben Molekül eine strategisch hochwirksame Methode zur Bildgebung von Erkrankungen wie Krebs. Allgemein wird der Zusammenschluss aus mehreren bildgebenden Modalitäten als bimodale oder auch als multimodale Bildgebung bezeichnet.^[70]

Durch die Kombination aus optischer und nuklearmedizinischer Bildgebungsmethoden wird ein synergistischer Effekt erzielt, da dadurch hohe Empfindlichkeiten, Gewebepenetrationen und hohe Ortsauflösungen im Mikrometerbereich vom Ganzkörper bis zur subzellulären Dimension erreicht werden können. Diese Konzeptstrategie ermöglicht die nichtinvasive präoperative Visualisierung von Tumoren mittels z.B. PET/CT gefolgt von einer äußerst effektiven Fluoreszenz-gestützten Tumorresektion und der anschließenden postoperativen Einschätzung der Tumorbehandlung wiederum mittels PET/CT und ist somit eine hochwirksame Methode zur Bekämpfung von Krebs.^[166]

Aus der Literatur sind bisher unterschiedliche multifunktionale Radiotracer für die bimodale Bildgebung bekannt. Neben der Kombination PET/OI und SPECT/OI sind auch andere Radiotracer und Kontrastmittel für die bimodale Bildgebung mittels PET/CT, PET/MRT, SPECT/MRT oder auch MRT/OI bekannt.^[69, 167-171]

Jedoch liegt im Rahmen dieser Arbeit der Fokus vorwiegend auf Klassen von Tracermolekülen, die für die Kombinationen des Typs PET/OI und SPECT/OI geeignet sind. Vor allem in den letzten 10 Jahren konnten eine Vielzahl an PET/OI und SPECT/OI Radiotracern hergestellt und biologisch evaluiert werden. In der nachfolgenden Abbildung 5

1. Theoretischer Teil

ist eine Auswahl wichtiger niedermolekularer Radiotracer für die Anwendungen PET/OI und SPECT/OI mit den jeweiligen Radionukliden und ihrer charakteristischen Eigenschaften dargestellt. Hierbei sind die Verbindungen in unspezifische und tumorspezifische Radiotracer eingeteilt. Neben den niedermolekularen Radiotracern gibt es auch auf Nanopartikeln basierende Radiotracer für die bimodale Bildgebung. Jedoch wird sich in dieser Arbeit hauptsächlich auf niedermolekulare Radiotracer konzentriert.^[69]

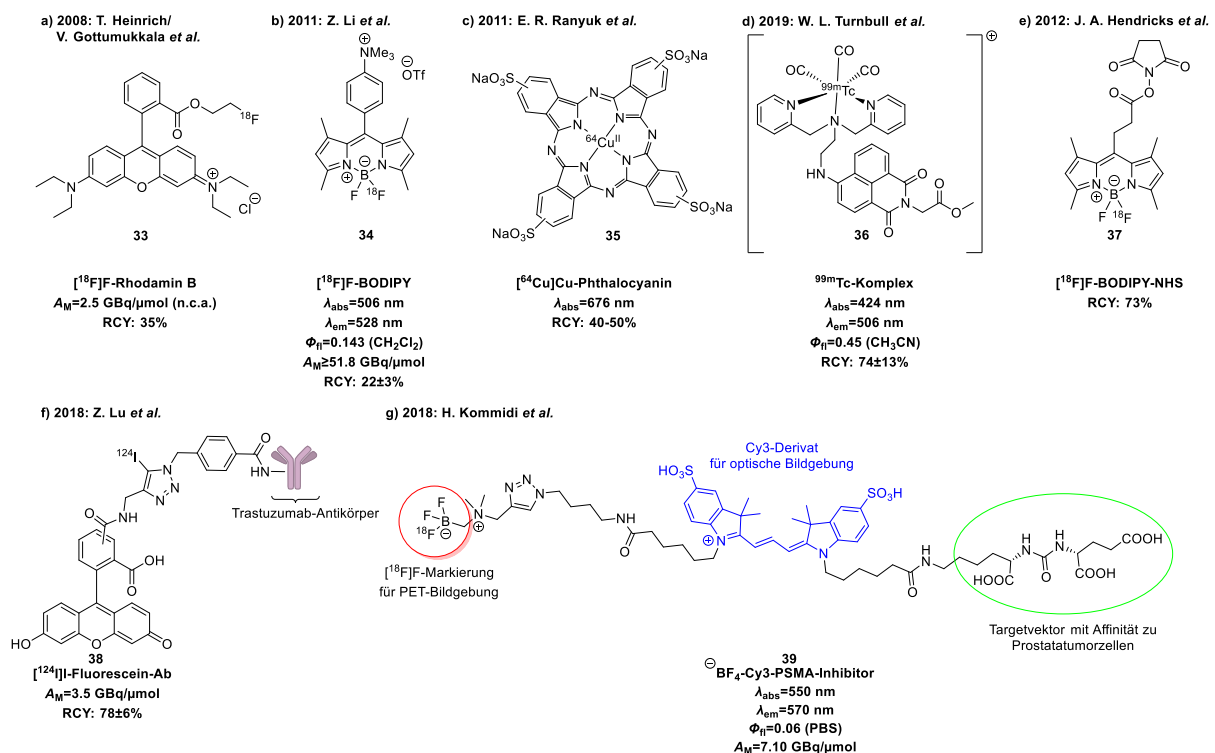


Abbildung 5: Eine Auswahl an Radiotracern für die bimodale PET/SPECT- und optische Bildgebung mit den charakteristischen optischen und radiochemischen Kenngrößen. A) [¹⁸F]F-Rhodamin B **33**, b) [¹⁸F]F-BODIPY **34**, c) [⁶⁴Cu]Cu-Phthalocyanin **35**, d) ^{99m}Tc-Komplex **36**, e) [¹⁸F]F-BODIPY-NHS-Ester für Biokonjugationen **37**, f) [¹²⁴I]I-Fluorescein-Antikörper (Trastuzumab) Konjugat **38** und ein [¹⁸F]F-BF₄-Cy3-Glu-Urea-Glu-Radiotracer **39** mit erhöhter Bindungsaffinität zu Prostatatumorzellen.^[172-181]

Der erste Fluor-18 markierte Farbstoff, welcher zur Rhodamin-Familie gehört, wurde im Jahr 2008 von der Gruppe um Heinrich *et al.* vorgestellt und im Jahr 2011 vollständig charakterisiert.^[172-174] Demnach wurde der Rhodamin B Farbstoff mit einer Fluor-18-radiomarkierten Alkylkette verestert, sodass die Radiofluorierung lediglich indirekt an den Farbstoff geknüpft wurde. Bisher wurde noch nicht von einer direkten Radiomarkierung an die Rhodamin-Grundstruktur berichtet.^[173]

Zwar wurde dieser Farbstoff nicht für die bimodale PET/OI-Bildgebung verwendet, sondern fand als myokardialer Perfusionsmarker Anwendung. Trotz eines anderen Einsatzgebietes

stellt der Rhodamin-B Farbstoff **33** als erster radiomarkierter Farbstoff den Beginn der Entwicklung von PET/OI Radiotracer dar (Abbildung 5a).^[172] Danach konnte im Jahr 2011 die Gruppe um Li *et al.* den ersten radiofluorierten BODIPY-Farbstoff als PET/OI Radiotracer einführen.^[175] Dieser radiomarkierte Farbstoff konnte mit einer radiochemischen Ausbeute (RCY, engl.: „*radiochemical yield*“) von lediglich 22% und optischen Eigenschaften im sichtbaren Bereich des elektromagnetischen Spektrums erhalten werden (Abbildung 5b).^[175, 177, 182-184] Interessanterweise zeigt das radiofluorierte BODIPY **34** *in vivo* kaum Hydrolyseeigenschaften der Bor-Fluorid Bindung, da in PET-Aufnahmen keine Inkorporation von freien Fluorid-18-Ionen in die Knochen detektiert wurden.^[175] Zwar liegt die molare Aktivität von **34** bei etwa 52 GBq/ μ mol, aber dennoch befinden sich die optischen Eigenschaften dieser Verbindung im sichtbaren Wellenbereich und somit limitiert diese Eigenschaft den möglichen Einsatz für bimodale PET/OI. Bis heute sind zahlreiche unterschiedliche radiomarkierte BODIPY-Farbstoffe charakterisiert und *in vivo* untersucht worden.^[185-187]

Im selben Jahr konnte auch ein Phthalocyanin publiziert werden, welches mit Kupfer-64 markiert wurde (Abbildung 5c). Dieser Farbstoff mit einem Molekulargewicht von ca. 985 g/mol besitzt optische Eigenschaften im NIR-Spektralbereich und weist als unspezifischer Farbstoff überraschenderweise eine gewisse Tumoraufnahme auf.^[176]

Zudem wurden Fluorophore mit SPECT-Radionukliden, wie mit dem klinisch relevanten Radionuklid Technetium-99m, markiert und ihre optischen und radiochemischen Eigenschaften untersucht (Abbildung 5d). So wurde bewiesen, dass der radiomarkierte Farbstoff **36** zellgängig ist.^[180] Weitere auf Technetium-99m basierende SPECT-OI-Vertreter zeigen ebenfalls zellpermeable Eigenschaften.^[188-189]

Gemeinsam haben diese unspezifischen und radiomarkierten Farbstoffe, dass sie an keine biologischen Targetvektoren gebunden sind, welche erst eine selektive Anreicherung des Radiotracers in Zielorganen oder Tumoren ermöglichen. Aus diesem Grund tragen diese unselektiven und lipophilen Radiotracer vornehmend zu einer unspezifischen Anreicherung in Leber und Niere bei.^[175-176]

Dagegen können die mit den PET-Radionukliden Fluor-18 und Iod-124 markierten Farbstoffe **37** und **38** an verschiedene Tumortargetvektoren gebunden werden (Abbildung 5e/f). Durch die Anknüpfung an entsprechenden Targetvektoren können diese Farbstoffe folglich in optischen und PET-Aufnahmen eine selektive Tumoranreicherung aufzeigen.^[177-178, 181] So zeigt beispielsweise der kürzlich entwickelte und biokonjugierte Fluor-18-markierte Radiotracer **39** in *in vivo* Versuchen eine hohe Bindungsaffinität zu Prostatatumorzellen (Abbildung 5g).^[179]

Die Entwicklung von Radiotracer für die bimodale Bildgebung erweist sich als äußerst komplex, da viele Faktoren wie geeignete optische Eigenschaften (z.B. hohe

Quantenausbeuten und molare Extinktionskoeffizienten), hohe Hydrophilie, minimierte Autofluoreszenz und Streueffekte, aber auch radiochemische Kenngrößen wie hohe radiochemische Ausbeuten und molare Aktivitäten berücksichtigt werden müssen. Zudem ist eine weitere Herausforderung, dass aufgrund der Arbeiten mit Radionukliden, unter Wahrung der physikalischen Halbwertszeiten des jeweiligen Radionuklids, die Syntheseschritte möglichst kurz und zeiteffizient durchgeführt werden müssen.

Zusammenfassend zu den PET/SPECT- und optisch bildgebenden Radiotraceren lässt sich feststellen, dass bisher nur wenige niedermolekulare NIR-Farbstoffe bekannt sind und den zukünftigen radiomarkierten Fluoreszenzfarbstoffen ein hohes Potential für die bimodale Bildgebung zugesprochen wird.

2. Zielsetzung

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Herstellung und Radiomarkierung neuartiger Silizium-Rhodamine (Si-Rhodamine/SiR) mit den klinisch relevanten Radionukliden Fluor-18, Technetium-99m und Iod-123 für den Einsatz als Radiotracer für die bimodale PET/SPECT und optische Bildgebung. Mit Molekulargewichten von weniger als 500 g/mol stellt die niedermolekulare Farbstoffklasse der Si-Rhodamine nach Kupplung an Tumorvektoren eine Möglichkeit dar, im Vergleich zu tumoraffinen Makromolekülen oder Biomolekülen (z.B. Proteine oder Antikörper) nur eine geringfügige Auswirkung auf die Pharmakologie zu haben. Bisher wurden noch keine direkt radiomarkierten Si-Rhodamine in der Literatur beschrieben. Aus diesem Grund ist es wichtig, dass zunächst die Eignung der neuen radiomarkierten Si-Rhodamine für ihre zukünftigen Einsätze als Radiotracer für die bimodale Bildgebung evaluiert werden.

Zuerst galt es Si-Rhodamine der allgemeinen Struktur **40** und **41** (Abbildung 6) zu synthetisieren und diese mit den gängigsten analytischen Methoden zu charakterisieren.

Dabei liegt ein Hauptaugenmerk der Si-Rhodamine, welche in mehrstufigen organischen Syntheseschritten erzielt werden sollen, auf eine hohe Reinheit aber auch auf eine hohe chemische Ausbeute der Fluoreszenzfarbstoffe und deren Vorläufer für die darauffolgende Radiomarkierung. Zudem ist es wichtig, dass die Si-Rhodamine eine akzeptable Löslichkeit im wässrigem Medium besitzen.

Des Weiteren galt als Ziel die optischen Eigenschaften der nicht-radioaktiven Si-Rhodamine wie beispielsweise ihre Photostabilität, aber auch die Absorptions- und Emissionswellenlängen im NIR-Wellenlängenbereich und die Quantenausbeuten im wässrigen Medium der Farbstoffe zu untersuchen sowie mit kommerziell erhältlichen und für die Fluoreszenz-gestützte Chirurgie zugelassenen klinischen Farbstoffen zu vergleichen.

Die Radiomarkierung der Si-Rhodamine soll mit den diagnostisch relevanten Radionukliden Technetium-99m und Iod-123 für die SPECT-Bildgebung und auch mit dem klinisch am Häufigsten genutzten Positronenemitter Fluor-18 durchgeführt werden. Hierbei werden die aus der Literatur bekannten modernen Methoden zur Radiomarkierung zur Hilfe genommen.

Da die Farbstoffe *in vitro* und *in vivo* auf ihre Tauglichkeit als Radiotracer untersucht werden müssen, sollen die radiomarkierten Farbstoffe zu einer prosthetischen Gruppe der allgemeinen Struktur **42** umfunktionalisiert werden, um eine anschließende Biokonjugation mit dem PSMA-Bindungsmotiv Glu-Urea-Lys oder anderen Tumorvektoren (z.B. Indomethacin) zu erzielen. Nach erfolgreicher Biokonjugation soll der Radiotracer hinsichtlich der Bindungsaffinität zu den Prostatatumorzellen evaluiert werden. Sobald der tumoraffine und

2. Zielsetzung

Radiotracer eine hohe Bindungsaffinität zu den Tumorzellen zeigt, kann die prosthetische Gruppe auf andere Tumorentitäten übertragen werden.

In Abbildung 6 sind die wesentlichen Ziele dieser Arbeit zusammengefasst.

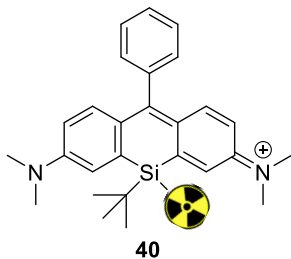
Zunächst soll die Radiomarkierung der Silylgruppe am Si-Rhodamin durch einen literaturbekannten Fluorisotopenaustausch untersucht werden (Abbildung 6a).

Im nächsten Teilprojekt soll eine Direktmarkierung der klinisch relevanten Radionuklide Technetium-99m, Iod-123 und Fluor-18 am Phenylring durchgeführt werden (Abbildung 6b).

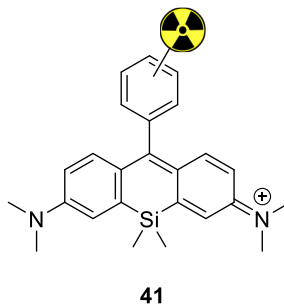
Nach den erfolgreichen Radiomarkierungen sollen entsprechende Si-Rhodamine als prosthetische Gruppe an literaturbekannte Tumorvektoren wie beispielsweise das PSMA-1007-Bindungsmotiv oder Indomethacin geknüpft und schließlich biologisch evaluiert werden (Abbildung 6c). Hierbei stellt sich die wesentliche Frage, ob die Tumorvektoren durch die Verknüpfung an die niedermolekularen und radiomarkierten Si-Rhodamine ihre Bindungsaffinität zu den entsprechenden Tumorzellen beibehalten oder sogar verlieren.

Mithilfe dieser Daten lässt sich ableiten, ob sich die radiomarkierten Si-Rhodamine als neuartige Substanzklasse für die bimodale Bildgebung eignen.

a) Radiomarkierung der Silanyl-Gruppe vom SiR mit Fluor-18



b) Radiomarkierung der Phenylgruppe am SiR-Grundgerüst mit Technetium-99m, Fluor-18, Iod-123



c) Biokonjugation der radiomarkierten SiRs mit z.B. PSMA-Bindungsmotiv oder Indomethacin als Targetvektoren

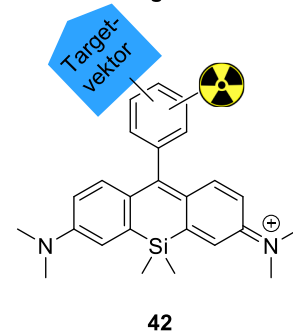


Abbildung 6: Die wesentlichen Ziele der Arbeit sind die Radiomarkierung von Si-Rhodaminen. a) Die Radiofluorierung des Si-Rhodamins **40** am Silizium in Form eines Radioisotopenaustauschs. b) Die direkte Radiomarkierung der Phenylgruppe am SiR-Grundgerüst **41** mit Technetium-99m, Fluor-18 und Iod-123. c) Die Kupplung des Si-Rhodamins **42** als radiomarkierte prosthetische Gruppe an tumoraffine Targetvektoren.

3. Ergebnisse und Diskussion

3.1 Die Synthese von Si-Rhodaminen durch Palladium-katalysierte Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplungen

Im ersten Teilprojekt dieser Arbeit wurde eine Synthesestrategie zur Palladium-katalysierten Herstellung von Si-Rhodaminen weiterentwickelt.¹ Die in Schema 6 gezeigten und bisher bekannten Synthesemöglichkeiten ergeben Si-Rhodamine in hohen Ausbeuten und hoher Reinheit. Jedoch erweisen sich einige der bisher vorgestellten Synthesemöglichkeiten, welche überwiegend auf nukleophile Additions- und Eliminierungsreaktionen basieren, vor allem für Carbonsäure-funktionalisierte Si-Rhodamine als nachteilig, da die Schützung der freien Carbonsäure zu zusätzlichen multiplen Syntheseschritten führen und somit letzten Endes die Endausbeute reduzieren kann. Außerdem kann die Synthesestrategie der nukleophilen Additionsreaktionen auch problematisch für die entsprechende Synthese der Carbonsäure-funktionalisierten Ausgangsstoffe, wie halogenierte Arylhalogenide, welche für den Lithium-Halogen-Austausch benötigt werden, sein. Zudem müssen die polaren Si-Rhodamine oftmals neben gängiger säulenchromatographischer Reinigungen zusätzlich mittels aufwendiger HPLC-Methoden aufgereinigt werden.

Aus diesen Gründen wurden weitere Veröffentlichungen zur Herstellung von Rhodaminen zur Hilfe genommen, um diese Synthesestrategien auf Si-Rhodamine zu übertragen und diese mit unterschiedlichen funktionellen Gruppen wie beispielsweise Säuregruppen auszustatten und möglichst in hoher Reinheit ohne zusätzliche Aufreinigungsschritte (z.B. HPLC) zu erhalten.

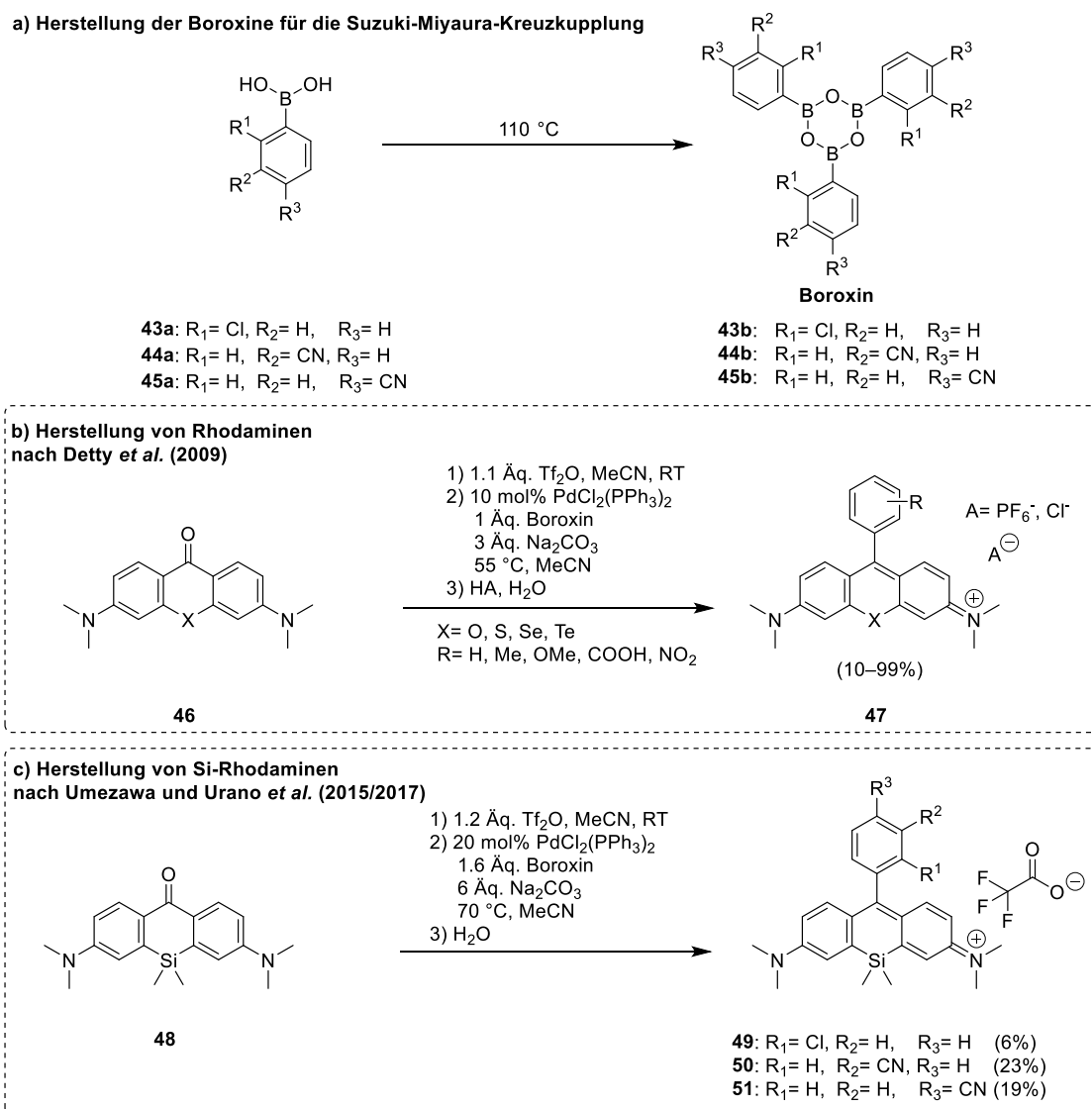
Die Synthesestrategie umfasst die Herstellung von Si-Rhodaminen durch Palladium-katalysierte Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplungen und basiert auf Vorarbeiten von Umezawa/Urano und Detty *et al.* (Schema 8b/c).^[190-192] Allgemein ist bekannt, dass Palladium-katalysierte Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplungsreaktionen unter milden Bedingungen und wenigen Syntheseschritten zu hohen chemischen Ausbeuten, aber auch zu hohen Reinheiten der entsprechenden Produkte führen. Zudem sind oftmals die hierfür benötigten recht stabilen Borverbindungen wie beispielsweise Arylboronsäuren kommerziell erhältlich oder auch leicht synthetisierbar.^[193-194]

Aus diesem Grund konnten bisher funktionalisierte Rhodamine der allgemeinen Struktur **47** mit akzeptablen Ausbeuten zwischen 10% und 99% dargestellt werden (Schema 8b).^[190] Dagegen konnten durch Umezawa und Urano *et al.* in Palladium-katalysierten Suzuki-Miyaura-Kupplungen Si-Rhodamine lediglich zwischen 6% und 23% (**49–51**) hergestellt

¹ Teile dieses Kapitels wurden bereits veröffentlicht: „A new approach to silicon rhodamines by Suzuki–Miyaura coupling – scope and limitations“, T. Kanagasundaram, A. Timmermann, C. S. Kramer, K. Kopka, *Beilstein J. Org. Chem.* **2019**, *15*, 2569–2576.

3. Ergebnisse und Diskussion

werden (Schema 8c).^[191-192] In beiden Synthesen wurden als Transmetallierungsreagenzien der Suzuki-Miyaura-Reaktionen Arylboroxine genutzt, welche wiederum aus Arylboronsäuren durch dreifache Kondensation synthetisiert wurden (Schema 8a).



Schema 8: Überblick über die literaturbekannten Möglichkeiten der Palladium-katalysierten Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplungsreaktionen zur Darstellung von (Si-)Rhodaminen. a) Herstellung der Boroxine durch Hitzebehandlung von Arylboronsäuren. b) Herstellung von verschiedenen Rhodaminen nach Detty *et al.*^[190] c) Herstellung von Si-Rhodaminen nach Umezawa und Urano *et al.*^[191-192]

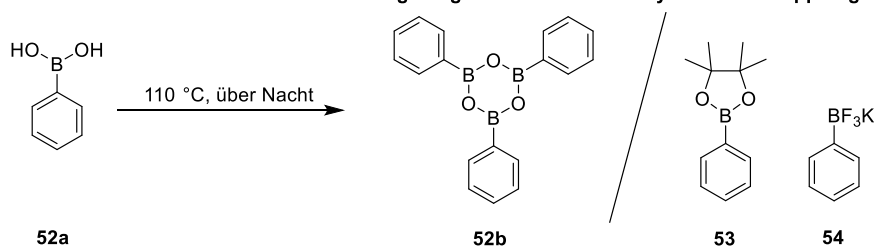
Im Rahmen dieses Teilprojekts wurden die literaturbekannten Vorschriften aus Schema 8b/c zu Hilfe genommen, um eine Optimierung der Palladium-katalysierten Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplungen für Si-Rhodamine vorzunehmen. Dabei lag der Fokus vor allem auf der Erhöhung der chemischen Ausbeute, der Minimierung der Syntheseschritte und zusätzlich dem Zugang zu biokonjugierbaren Si-Rhodaminen. Neben literaturbekannten Vorschriften

3. Ergebnisse und Diskussion

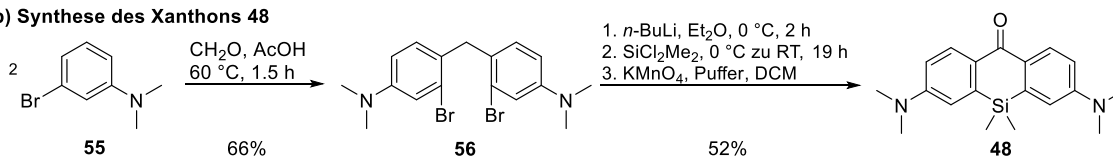
beruhen die Vorarbeiten auch auf Abschlussarbeiten von A. Timmermann und C. S. Kramer.^[195-198]

Um die Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplungsreaktionen zur Synthese von Si-Rhodaminen zu optimieren, wurden zunächst unterschiedliche Bedingungen zur Darstellung eines einfachen phenylsubstituierten Si-Rhodamins **57** untersucht. Als erstes wurden zur Synthese der Si-Rhodamine die Edukte hergestellt (Schema 9a).

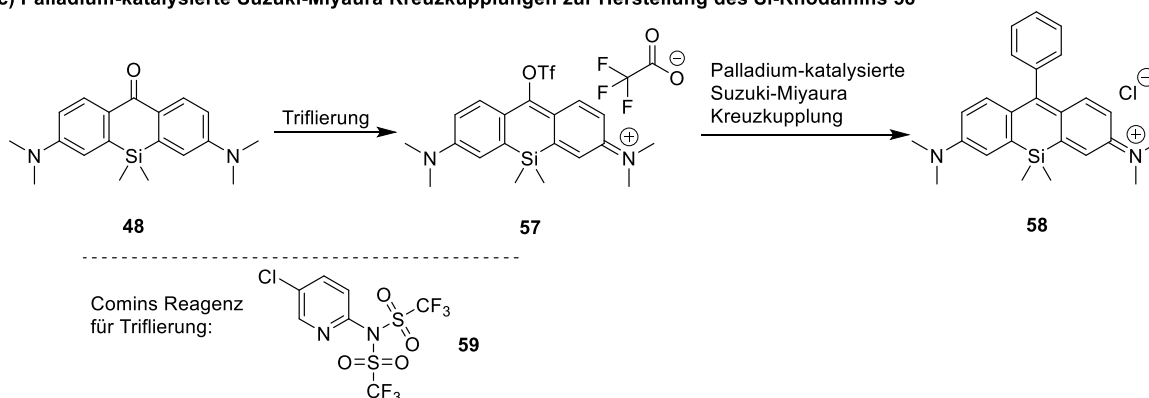
a) Verschiedene auf Bor-basierende Transmetallierungsreagenzien für Suzuki-Miyaura Kreuzkupplungen



b) Synthese des Xanthons **48**



c) Palladium-katalysierte Suzuki-Miyaura Kreuzkupplungen zur Herstellung des Si-Rhodamins **58**



Schema 9: Palladium-katalysierte Synthese von Si-Rhodaminen. a) Synthese des Boroxins **52b** ausgehend von Phenylboronsäure (**52a**) und weiteren auf Bor-basierenden Transmetallierungsreagenzien wie Phenylboronsäurepinakolester (**53**) und Kalium-Phenyltrifluorborat (**54**). b) Mehrstufige Synthese des Si-Xanthons **48**. c) Allgemeine Bedingungen zur Darstellung des Si-Rhodamins **58** über eine Palladium-katalysierte Kreuzkupplungsreaktion. Chemische Strukturformel des Comins Reagenz **59**.

Die Herstellung des Boroxins **52b** wurde durch die dreifache Kondensation der Phenylboronsäure **52a** bei 110 °C erreicht. Das entstandene Boroxin **52b** wurde ohne weitere Reinigung in den nachfolgenden Palladium-katalysierten Kreuzkupplungsreaktionen eingesetzt. Die Nutzung des Boroxins wird im Gegensatz zur freien Boronsäure bevorzugt, da

Boroxine die Generierung des Triflats **57**, welches für die Suzuki-Miyaura-Reaktion benötigt wird, erleichtern.^[190] Außerdem sind Boroxine im Gegensatz zu den freien Boronsäuren meist stabiler.^[199] Zusätzlich wurden für die Suzuki-Miyaura-Reaktionen die kommerziell erhältlichen Borverbindungen Phenylboronsäurepinakolester (**53**) und Kalium-Phenyltrifluoroborat (**54**) als alternative Transmetallierungsreagenzien verwendet.

Die Herstellung des Si-Xanthon **48** erfolgte in einer dreistufigen Synthese. Hierzu wurde im ersten Schritt in einer Blanc-Reaktion nach Lukinavičius *et al.* das 3-Bromo-*N,N*-dimethylanilin (**55**) mit Formaldehyd in Eisessig mit einer Reaktionsdauer von eineinhalb Stunden bei 60 °C zum entsprechenden 4,4'-Methylenbis(3-bromo-*N,N*-dimethylanilin) (**56**) umgesetzt.^[153, 200] Dabei konnte das Dibromid **56** nach säulenchromatographischer Reinigung (*n*-Hexan/Ethylacetat 95:5 auf Kieselgel) mit einer chemischen Ausbeute von 66% als farbloser Feststoff erhalten werden.^[195]

Anschließend wurde das Si-Xanthon **48** in einer zweistufigen Eintopfreaktion nach hausinternen Daten und auf Grundlagen der Vorschrift von Bertozzi *et al.* hergestellt (Schema 9b).^[195-197, 201] Demnach wurde nach einer doppelten Lithium-Halogen-Austauschreaktion mit den Bromatomen die Silylgruppe eingeführt und nach anschließender Oxidation mit Kaliumpermanganat das Si-Xanthon **48** synthetisiert. Der gelbe Feststoff wurde nach säulenchromatographischer Reinigung (*n*-Hexan/Ethylacetat 95:5 zu 60:40 auf Kieselgel) mit einer chemischen Ausbeute von 52% erhalten. Diese Synthese wurde in einem Multigrammaßstab bis zu einer Menge von 1.50 g durchgeführt. Das Si-Xanthon **48** dient als allgemeiner Baustein für die künftigen Darstellungen von Si-Rhodaminen in dieser Arbeit. Im nächsten Schritt wurde die Synthese der Si-Rhodamine vorgenommen (Schema 9c). Im ersten Teilschritt der Suzuki-Miyaura-Reaktion wurde das Si-Xanthon **48** in das entsprechende Triflat **57** überführt. Anschließend fand die Palladium-katalysierte Kreuzkupplungsreaktion zum Si-Rhodamin **58** statt. In Tabelle 4 sind die Ergebnisse dieser Optimierungsreaktionen dargestellt. Das Si-Rhodamin **58** wurde mittels ¹H/¹³C-NMR und HR-ESI-MS (positiver Modus) charakterisiert.

Mithilfe der literaturbekannten Bedingungen von Detty *et al.* konnte das Si-Rhodamin **58** hergestellt werden.^[190] Demnach wurde das Si-Xanthon **48** bei Raumtemperatur mit 1.1 Äquivalenten Triflierungsreagenz Tf₂O (Trifluormethansulfonsäureanhydrid) in trockenem Acetonitril zum dunkelblauen Triflat **57** umgesetzt. Ohne weitere Reinigung von **57** erfolgte nach 20 Minuten die Suzuki-Miyaura-Reaktion zur Synthese von **58** mit PdCl₂(PPh₃)₂ (10 Mol%) als Katalysator und drei Äquivalenten Natriumcarbonat als Base über Nacht (ü. N.) bei 70 °C (Tabelle 4, Eintrag: 1).

3. Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 4: Überblick der Optimierung zur Synthese des Si-Rhodamins **58** unter Einsatz verschiedener Bedingungen zur Triflierung, Pd-Katalysatoren, unterschiedlichen Bor-Verbindungen und Reaktionsbedingungen und Resultate der Reaktion unter Angabe der chemischen Ausbeute.

Eintrag	Triflierung	Palladium-katalysierte Kreuzkupplung			Ausbeute von 58
		Pd-Katalysator (10 mol%)	Bor-Verbindung (1 Äq.)	Bedingungen	
1	1.1 Äq. Tf ₂ O, MeCN, RT, 20 min	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂	52b	3 Äq. Na ₂ CO ₃ , MeCN, 70 °C, ü. N.	41% ^a
2	1 Äq. Comins Reagenz, MeCN, RT, 1 h	-	-	-	-
3	1.1 Äq. Tf ₂ O, DCM, RT, 20 min,	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂	52b	3 Äq. Na ₂ CO ₃ , MeCN, 70 °C, ü. N.	49% ^a , 80% ^{a,b}
4	Entfernung des Lösungsmittels	Pd(PPh ₃) ₄	52b	3 Äq. Na ₂ CO ₃ , MeCN, 70 °C, ü. N.	39% ^a , 82% ^{a,b}
5		PdCl ₂ (PPh ₃) ₂	52b	3 Äq. Cs ₂ CO ₃ , MeCN, 70 °C, ü. N.	k. U.
6		PdCl ₂ (PPh ₃) ₂	53	3 Äq. Na ₂ CO ₃ , MeCN, 70 °C, ü. N.	k. U.
7		PdCl ₂ (PPh ₃) ₂	54	3 Äq. Na ₂ CO ₃ , MeCN, 70 °C, ü. N.	48% ^a
8		PdCl ₂ (dppf)	52b	3 Äq. Na ₂ CO ₃ , MeCN, 70 °C, ü. N.	67%, 73% ^b

^aKorrigierte chemische Ausbeute, unter Berücksichtigung der Verunreinigung [PPh₄]⁺. ^bChemische Ausbeute basierend auf säulenchromatographisch aufgereinigtes und reisoliertes Si-Xanthon **48**. ü.N.: über Nacht, k.U.: keine Umsetzung.

Dabei konnte **58** nach säulenchromatographischer Reinigung (Dichlormethan/Methanol 99:1 zu 90:10 auf Kieselgel) mit einer Ausbeute von 44% synthetisiert werden. Es ist wichtig zu erwähnen, dass unter diesen Bedingungen das Tetraphenylphosphoniumchlorid (PPh₄Cl), möglicherweise vom Katalysator PdCl₂(PPh₃)₂, als Verunreinigung gebildet und im ¹H-NMR und im HR-ESI-MS (positiver Modus) als Tetraphenylphosphonium-Kation nachgewiesen wurde. Diese Verunreinigung konnte nach säulenchromatographischer Reinigung (DCM/Methanol 99:1 zu 90:10 auf Kieselgel) nicht vom Si-Rhodamin **58** abgetrennt werden. Daher musste bei der Berechnung der chemischen Ausbeute das ¹H-NMR-Spektrum zu Hilfe genommen und der Anteil des PPh₄Cl berücksichtigt und von der Gesamtausbeute entsprechend abgezogen werden. Um eine hohe chemische Reinheit dieser Verbindung zu gewährleisten, müsste diese Mischung aus Si-Rhodamin **58** und Tetraphenylphosphonium-Verunreinigung mittels zusätzlicher HPLC-Aufreinigung isoliert werden.

Zudem wurde festgestellt, dass die Triflierung des Si-Xanthons **48** zum Triflat **57** nur unvollständig stattfand. Aus diesem Grund wurde das sogenannte Comins Reagenz **59** verwendet, welches eine alternative Variante zur Triflierung darstellt (Eintrag: 2).^[202] Jedoch konnte mit diesem Reagenz keine Umsetzung vom gelben Si-Xanthon **48** zum dunkelblauen Triflat **57** festgestellt werden, sodass kein entsprechendes Si-Rhodamin **58** erhalten werden konnte.

Die Verwendung von DCM anstatt von Acetonitril für die Triflierung und die anschließende Entfernung des DCM, unter Hochvakuum, führte zu höheren Umsetzungen des Triflats **57** und stellt somit eine ideale Variante zur Triflierung des Si-Xanthons **48** dar (Eintrag: 3). So konnte die chemische Ausbeute nach säulenchromatographischer Reinigung auf 49% erhöht werden. Die Reisolierung des Si-Xanthons **48**, während der säulenchromatographischen Reinigung (Dichlormethan/Methanol 99:1 zu 90:10 auf Kieselgel), führte sogar zu einer chemischen Ausbeute von 80% an **58**.

Um die Effizienz der Palladium-katalysierten Kreuzkupplungsreaktion zu erhöhen, wurde der Palladium(0)-Katalysator Pd(PPh₃)₄ verwendet und der Triflierungsschritt mit DCM beibehalten (Eintrag: 4). Im Vergleich zu den vorherigen Bedingungen (Eintrag: 3) konnten keine besseren Umsetzungen, sondern nur ähnliche chemische Ausbeuten für das Si-Rhodamin **48** erhalten werden (82% nach Reisolierung des Si-Xanthons **48**). Zudem wurde dieselbe Verunreinigung PPh₄Cl festgestellt. Trotz dieser Beobachtung zeigt der Einsatz des Katalysators Pd(PPh₃)₄ höhere chemische Ausbeuten als in den Arbeiten, welche von Detty *et al.* für die Rhodamine beschrieben wurden.^[190]

Die Verwendung einer stärkeren Base wie Cäsiumcarbonat statt Natriumcarbonat und die daraus resultierende erhöhte Basizität, durch Ausnutzung des einhergehenden „Cäsium-Effekts“, in Acetonitril führte zu keiner erfolgreichen Umsetzung zum gewünschten Produkt (Eintrag: 5).^[203]

Während die Nutzung des Kalium-Phenyltrifluoroborats (**54**) unter den optimierten Bedingungen als alternatives Transmetallierungsreagenz zu einer Ausbeute von 48% führte und somit ähnliche Umsetzungen wie die entsprechenden Boroxine lieferte (Eintrag: 7), konnte keine Umsetzung des Phenylboronsäurepinakolesters (**53**) festgestellt werden (Eintrag: 6).

Um die Bildung des Tetraphenylphosphonium-Kations zu vermeiden, wurde der Palladium(II)-Katalysator mit bidentatem Liganden PdCl₂(dppf) (1,1'-Bis-(diphenylphosphino)-ferrocen]-dichloro-Palladium(II)) verwendet (Eintrag: 8). Letzten Endes konnte dadurch Si-Rhodamin **58** erfolgreich mit einer Ausbeute von 67% bzw. nach Reisolierung des Si-Xanthons **48** mit einer Ausbeute von 73% synthetisiert werden (Eintrag: 8). Durch den Einsatz eines bidentaten Liganden für den Palladium(II)-Komplex blieb die Bildung der Verunreinigung des Tetraphenylphosphonium-Kations erwartungsgemäß aus, sodass zusätzlich eine hohe

chemische Reinheit von **48** erreicht wurde. Ein weiterer Vorteil der Verwendung des bidentaten Katalysators ist die hohe chemische Ausbeute, welche auf den zweizähligen Liganden dppf und des damit resultierenden hohen Bisswinkels zwischen dem Palladium(II)-Komplex und dem Liganden zurückzuführen ist. Der erhöhte Bisswinkel zwischen den Phosphin-Liganden und dem Palladium(II) führt zu einem niedrigen Winkel zwischen dem Xanthen-Gerüst und der Arylverbindung, sodass die reduktive Eliminierung im Katalysezyklus begünstigt wird.^[199, 204]

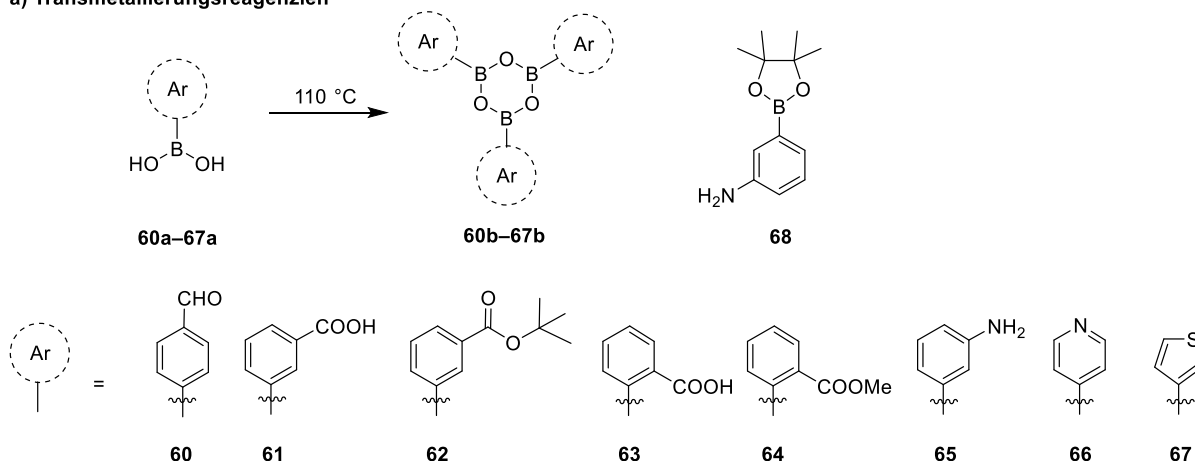
Zusammenfassend konnten die besten Ergebnisse der Palladium-katalysierten Kreuzkupplungsreaktionen mit dem Triflierungsreagenz Tf₂O in DCM, der anschließenden Entfernung des DCMs und der Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplung in Acetonitril mit dem Katalysator PdCl₂(dppf) mit dem bidentatem Liganden (dppf) erhalten werden.

Im nächsten Schritt wurde versucht, diverse Arylboronsäuren in Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplungsreaktionen zu den entsprechenden Si-Rhodaminen umzusetzen. Dabei wurden kommerziell erhältliche Boronsäuren mit verschiedenen Funktionalitäten ausgewählt, um die Grenzen der optimierten Synthesemethode zu untersuchen. Beispielsweise wurden Arylboronsäuren mit elektronenziehenden Gruppen wie eine Aldehydfunktion oder auch geschützte und ungeschützte Carbonsäurefunktionen genutzt. Ein Aldehyd-funktionalisiertes Si-Rhodamin ist von Vorteil, da es nach konventionellen Methoden zu einem Carbonsäure-funktionalisiertem Si-Rhodamin oxidiert werden kann.^[205] Carbonsäure-funktionalisierte Si-Rhodamine eignen sich wiederum besonders für die Biokonjugation von biologischen Targets wie beispielsweise kleinmolekularen Tumorvektoren oder auch Antikörpern, da diese nach Aktivierung mit primären Aminen zu den entsprechenden Carbonsäureamiden umgesetzt werden können.^[206] Des Weiteren wurden elektronenschiebende Gruppen wie eine Aminogruppen-funktionalisierte Arylboronsäure **65** und der entsprechende 3-Aminophenylboronsäurepinakolester (**68**) untersucht. Außerdem wurde auch die Eignung von elektronenarmen Heterozyklen wie die Pyridyl- und Thienyl-funktionalisierten Boronsäuren **66** und **67** in Suzuki-Miyaura-Reaktionen getestet (Schema 10).

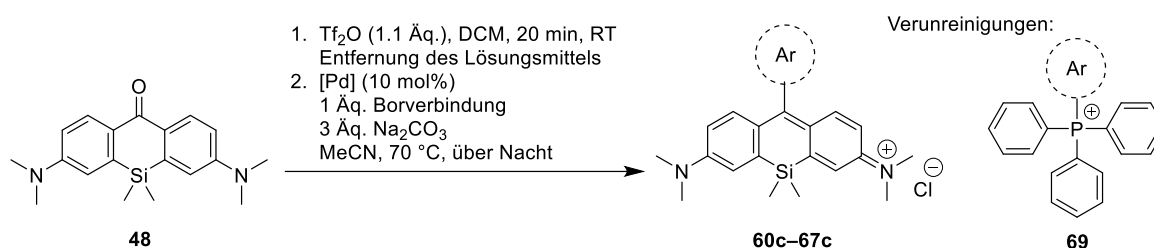
Analog zu den vorherigen Reaktionen wurden zunächst die kommerziell erhältlichen Arylboronsäuren **60a–67a** in die entsprechenden Boroxine **60b–67b** umgewandelt, indem die entsprechenden Boronsäuren für sechs Stunden bei 120 °C unter leichtem Vakuum erhitzt wurden (Schema 10a). Anschließend wurden die Arylboroxine, ohne weitere Aufreinigung, für die Palladium-katalysierten Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplungsreaktionen genutzt. Ähnlich zu den vorherigen Kupplungsreaktionen wurde die Triflierung des Si-Xanthons **48** mit Tf₂O in DCM bei Raumtemperatur und anschließender Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum durchgeführt.

3. Ergebnisse und Diskussion

a) Transmetallierungsreagenzien



b) Palladium-katalysierte Suzuki-Miyaura Kreuzkupplungen zur Herstellung der Si-Rhodamine



Schema 10: Palladium-katalysierte Synthese von unterschiedlich funktionalisierten Si-Rhodaminen.

a) Synthese der Boroxine **60b–67b** durch unterschiedliche kommerziell erhältliche Arylboronsäuren **60a–67a** und das 3-Amino-phenylboronsäurepinakolester **68** als weiteres Transmetallierungsreagenz.

b) Bedingungen zur Darstellung der unterschiedlichen Si-Rhodamine durch Palladium-katalysierte Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplungsreaktionen.

Ebenfalls wurden für die Suzuki-Miyaura-Kupplungsreaktionen die Katalysatoren $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ oder auch $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (10 mol%) und die Base Natriumcarbonat (drei Äquivalente) genutzt und die Reaktionen in wasserfreiem Acetonitril, unter Schutzgasatmosphäre, durchgeführt (Schema 10b). In der nachfolgenden Tabelle 5 sind die Resultate der Palladium-katalysierten Kreuzkupplungsreaktionen ausgehend der unterschiedlichen Arylboroxinen gezeigt. Analog zur vorangegangenen Synthese von **58** wurden bei den nachfolgenden Synthesen der Si-Rhodamine auf Phosphoniumsalz-basierende Verunreinigungen der allgemeinen Struktur **69** geprüft und bei der Berechnung der chemischen Ausbeuten berücksichtigt.

3. Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 5: Überblick der Optimierung zur Synthese diverser Si-Rhodamine **60c–67c** unter Einsatz verschiedener Bor-Verbindungen und Pd-Katalysatoren Reaktionsbedingungen und der Ausgang der Reaktion unter Angabe der chemischen Ausbeute.

Eintrag	Borverbindung	Pd-Katalysator (10 mol%)	Ausbeute
1	60b	$\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$	k. U.
2	61b	$\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$	5% ^a , 46% ^{a,b} (61c)
3	61b	$\text{PdCl}_2(\text{dppf})$	31%, 56% ^b (61c)
4	62b	$\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$	43% ^a , 62% ^{a,b} (62c)
5	62b	$\text{PdCl}_2(\text{dppf})$	53%, 66% ^b (62c)
6	63b	$\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$	k. U.
7	64b	$\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$	k. U.
8	65b	$\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$	k. U.
9	66b	$\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$	k. U.
10	67b	$\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$	37% ^a , 56% ^{a,b} (67c)
11	67b	$\text{PdCl}_2(\text{dppf})$	91% (67c)
12	68	$\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$	k. U.

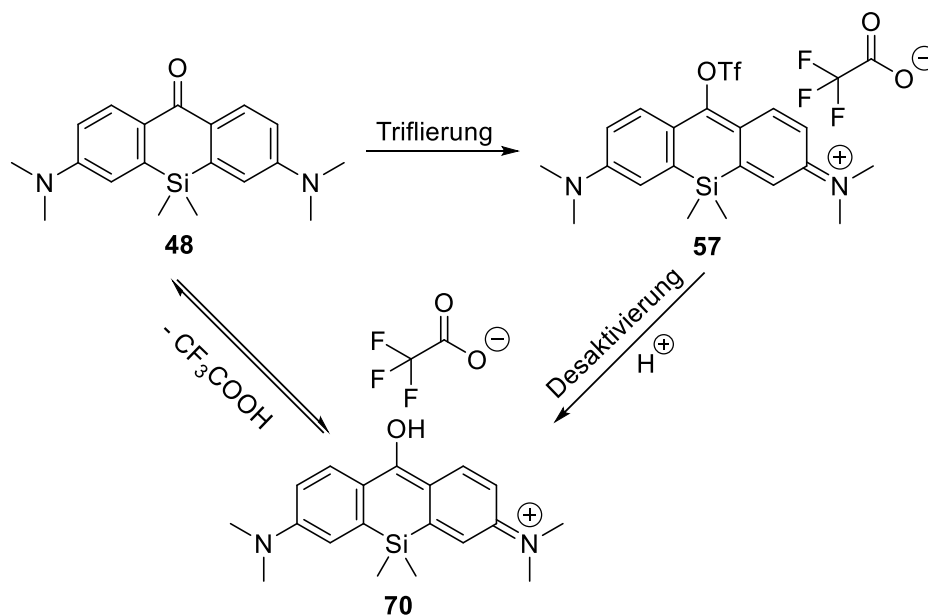
^aKorrigierte chemische Ausbeute unter Berücksichtigung der Verunreinigung $[\text{PPh}_3\text{Ar}]^+$, ^bChemische Ausbeute basierend auf säulenchromatographisch aufgereinigtes und reisoliertes Si-Xanthon **48**.

Das Aldehyd-funktionalisierte Boroxin **60b** wurde, unter den genannten Bedingungen, in der Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplungsreaktion nicht umgesetzt, sodass das Kupplungsprodukt **60c** nicht erhalten werden konnte (Tabelle 5, Eintrag: 1).

Dagegen konnte das ungeschützte Carbonsäure-funktionalisierte Boroxin **61b** sowohl mit dem Katalysator $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ als auch mit $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ synthetisiert werden. Dabei betragen die chemischen Ausbeuten nach Berücksichtigung des nicht-umgesetzten und reisolierten Si-Xanthons **48** zwischen 46% (Eintrag: 2) und 56% (Eintrag: 3). Hierbei ist zu beachten, dass in der Synthese des Si-Rhodamins **62b** durch den Katalysator $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ das Kation (3-Carboxyphenyl)-Triphenylphosphonium-Ion als Verunreinigung entstanden ist (Eintrag 2). Dagegen wurde nach Verwendung des bidentaten Katalysators $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ kein Nebenprodukt festgestellt. Folglich führt, wie bereits festgestellt, die Nutzung des bidentaten Katalysators $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ im Vergleich zum $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ -Katalysator zu einer höheren chemischen Reinheit und Ausbeute ohne die Bildung weiterer Nebenprodukte.

Ein möglicher Grund der moderaten Ausbeuten dieser Suzuki-Miyaura-Reaktionen ist wahrscheinlich die Verwendung des Boroxins **63b**, welches die ungeschützte Carbonsäure

enthält. Die freie Carbonsäure der Arylverbindung kann in saurer Umgebung die Bildung des Triflats **57** hemmen, indem **57** durch Protonierung zu **70** umgesetzt wird und somit nicht mehr im oxidativen Additionsschritt des Katalysezyklus mitwirken kann (Schema 11). Die protonierte Spezies **70** kann wiederum zum Si-Xanthon **48** zurückreagieren und somit zu einer Verminderung der chemischen Ausbeuten führen. Um die Desaktivierung des Triflats **57** zu verhindern, wurde eine geschützte Carbonsäure-funktionalisierte Boronsäure **62a** verwendet und zu dem Boroxin **62b** umgesetzt.



Schema 11: Triflierung des Si-Xanthon **48** mit Tf_2O und die Desaktivierung des Triflats **57** durch Protonierung. Das protonierte Xanthen **70** unterliegt einem chemischen Gleichgewicht zwischen dem Si-Xanthon **48** und **70**.

Interessanterweise zeigt die Verwendung des entsprechenden *tert*-Butylgruppen-geschützten Boroxins **62b** ähnliche chemische Ausbeuten in der Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplungsreaktion wie das ungeschützte Carbonsäure-funktionalisierte Boroxin **61b** (Einträge 4: 62% und 5: 66%). Dementsprechend zeigen beide Katalysatoren eine ähnliche Effizienz, da die chemischen Ausbeuten für beide Reaktionen nahe beieinander liegen. Erwartungsgemäß lässt sich an den Umsetzungen des geschützten Boroxins erkennen, dass die Bildung des Triflats **57** effektiver stattfindet als vom ungeschützten Boroxin **61b**. Dies wird durch Vergleich der chemischen Ausbeuten ohne Berücksichtigung der Reisolierung des Si-Xanthon **48** deutlich (Einträge 2: 5% und 3: 31% versus 4: 43% und 5: 53%).

Die Verwendung des in Position 2 befindlichen und somit *ortho*-substituierten und freien Carbonsäure-funktionalisierten Boroxins **63b** und des geschützten Methylesters **64b** führte zu keiner Umsetzung zu den entsprechenden Si-Rhodaminen (Einträge 6 und 7). Dies ist

möglicherweise auf sterische Hinderungen der *ortho*-substituierten Boroxine im Transmetallierungsschritt aus dem Katalysezyklus zurückzuführen. Die Problematik von *ortho*-substituierten und sterisch gehinderten Arylboronsäuren im Transmetallierungsschritt von Palladium-katalysierten Kreuzkupplungsreaktionen wurde bereits in unterschiedlichen Veröffentlichungen beschrieben.^[207-208]

Die Synthese von Aminogruppen-funktionalisierten Si-Rhodaminen sind ebenfalls wichtig, da diese in einem einfachen Syntheseschritt zum entsprechenden Azid umgesetzt werden können oder auch mit aktivierten Säuregruppen (beispielsweise mit -NHS, -PFP oder -PNP-Estern) an wichtige biologische Targetvektoren geknüpft werden können.^[209-210]

Azid-funktionalisierte Si-Rhodamine eignen sich vor allem für die bioorthogonale Kupfer-katalysierte Azid-Alkin Cycloadditionsreaktionen (CuAAC: copper(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition).^[211] Jedoch führte die Aminogruppen-funktionalisierte Phenylboronsäure **65a** und das entsprechende Boroxin **65b** zu keiner erfolgreichen Umsetzung zum Si-Rhodamin. Dies ist möglicherweise auf das Boroxin **65b** zurückzuführen, da sich dieses bei einer Temperatur von 110 °C möglicherweise zersetzt. Aus diesem Grund wurde alternativ der Amin-funktionalisierte 3-Aminophenylboronsäurepinakolester (**68**) für die Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplungsreaktion genutzt. Überraschenderweise konnte jedoch auch diese elektronenreiche Verbindung nicht zum Si-Rhodamin **65c** umgesetzt werden (Eintrag: 12).

Des Weiteren wurde der Einsatz von Heteroaromaten in Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplungsreaktionen untersucht. Während ein elektronenarmes Pyridin-funktionalisiertes Boroxin **66b** keine Umsetzungen zeigte (Eintrag: 9) konnte das Thienyl-funktionalisierte Si-Rhodamin **67c** mit einer Ausbeute von 56% unter Berücksichtigung der entsprechenden Verunreinigung des Thienyltriphenylphosphonium-Kations und nach Reisolierung des Si-Xanthons **48** synthetisiert werden (Eintrag: 10). Aus der Literatur ist bekannt, dass besonders elektronenarme aromatische Verbindungen wie auf Pyridin basierende Boronsäuren langsame Umsetzungsraten im Transmetallierungsschritt besitzen. Zudem wird vermutet, dass solche Boronsäuren einem Protodeborylierungsschritt unterliegen, sodass diese Verbindungen für die anstehende Palladium-katalysierte Kreuzkupplungsreaktion deaktiviert und nicht mehr umgesetzt werden können.^[212-214]

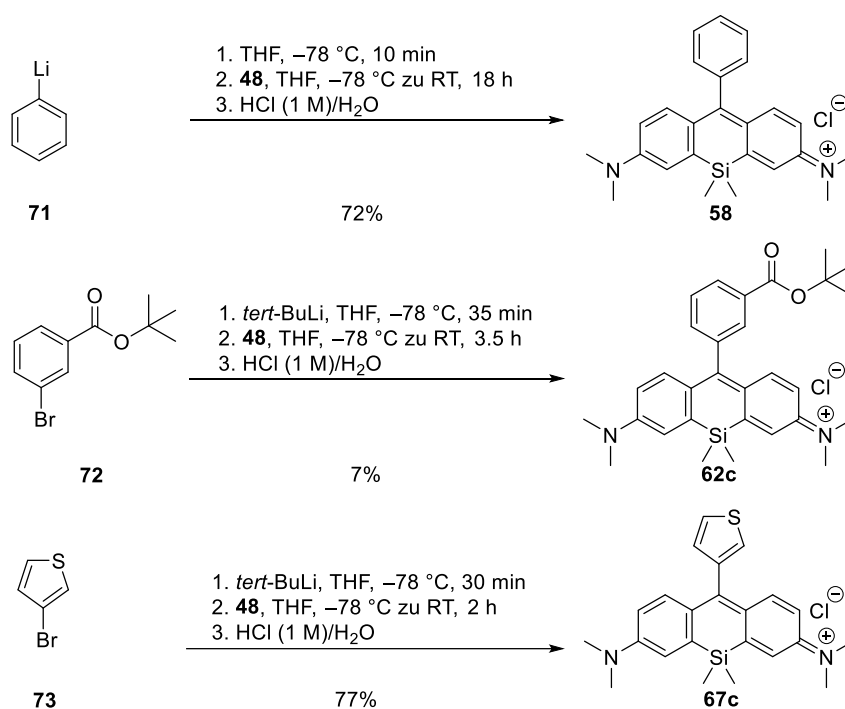
Wie in den vorherigen erfolgreichen Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplungsreaktionen, konnte das literaturunbekannte Si-Rhodamin **67c** lediglich mit dem Katalysator PdCl₂(dppf) analysenrein und mit der höchsten chemischen Ausbeute von 91% synthetisiert werden (Eintrag: 11).

Zusammenfassend wird deutlich, dass die Synthese der Si-Rhodamine durch Nutzung verschiedener Boroxine **60b–67b** und Katalysatoren in Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplungsreaktionen realisierbar ist. Besonders die Synthese der biologisch interessanten Si-Rhodaminen **61c** und **62c** kann genutzt werden, um biologische

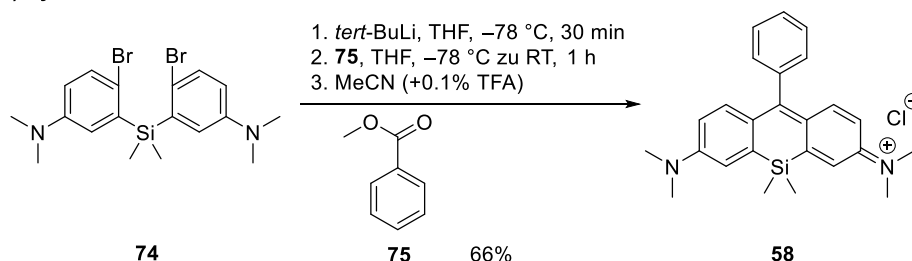
Targetvektoren an das Si-Rhodamin zu knüpfen und mit diesen dann schließlich selektive Anreicherungen in Tumoren zu erreichen.

Im nächsten Schritt wurden die literaturbekannten Synthesemethoden aus Schema 6 genutzt, um einen Vergleich der bisherigen Synthesemethoden zur Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplungsreaktion zu ziehen und diese hinsichtlich ihrer Effizienz und Leistung zu bewerten. So wurden die Si-Rhodamine **58**, **62c** und **67c** nach literaturbekannten Vorschriften synthetisiert und mit den Ergebnissen der Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplungsreaktionen verglichen.^[150, 153] In Schema 12 ist die Darstellung ausgewählter Si-Rhodamine veranschaulicht.

a) Synthese der Si-Rhodamine **58**, **62c** und **67c** nach Johnsson *et al.*



b) Synthese des Si-Rhodamins **58** nach Lavis *et al.*



Schema 12: Überblick der Synthesemethoden nach a) Johnsson und b) Lavis *et al.* zur Synthese der in dieser Arbeit thematisierten Si-Rhodamine **58**, **62c** und **67c**.

In Tabelle 6 ist die zu Schema 12 zugehörige Übersicht über die verschiedenen Methoden zur Darstellung von Si-Rhodaminen mit den erzielten chemischen Ausbeuten gezeigt.

Tabelle 6: Übersicht über die verschiedenen Herstellungsmethoden der Si-Rhodamine und der daraus erzielten chemischen Ausbeuten.

	Vergleich der Methoden zur Synthese der Si-Rhodamine		
Si-Rhodamin	Synthese nach Johnsson <i>et al.</i> ^[153]	Synthese nach Lavis <i>et al.</i> ^[150]	Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplung
SiR 58	72%	66%	67% ^a
SiR 62c	7%	-	53% ^a
SiR 67c	77%	-	91%

^aChemische Ausbeuten sind ohne Berücksichtigung der reisolierten Menge des Si-Xanthons **48** angegeben.

Aus Tabelle 6 wird ersichtlich, dass das Si-Rhodamin **58** nach den Methoden von Johnsson und Lavis *et al.* mit chemischen Ausbeuten zwischen 72% und 66% hergestellt werden konnte. Diese Ausbeuten sind vergleichbar mit den Umsetzungen der Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplungsreaktion (67%). Während das Carbonsäure-funktionalisierte Si-Rhodamin **62c** lediglich mit einer Ausbeute von 7% durch Nutzung der literaturbekannten Methode hergestellt werden konnte, wurde das biokonjugierbare Si-Rhodamin **62c** nach Optimierung der Suzuki-Miyaura-Reaktion mit einer Ausbeute von 53% hergestellt. Zudem wurde in der Suzuki-Miyaura-Reaktion die höchste chemische Ausbeute für das Si-Rhodamin **67c** mit 91% erhalten. Dieser Wert liegt somit höher, als die herkömmliche Variante nach Johnsson *et al.*, welche einem nukleophilen Additions- und Eliminierungsreaktionmechanismus unterliegt. Diese Beispiele zeigen, dass durch die Palladium-katalysierten Suzuki-Miyaura-Reaktionen hohe chemische Ausbeuten aber auch nach säulenchromatographischer Reinigung eine akzeptable chemische Reinheit möglich ist und zur Si-Rhodamin Synthese keine weiteren aufwendigen Aufreinigungsschritte mittels HPLC notwendig sind. So können biologisch relevante Si-Rhodamine wie **62c** möglichst effizient hergestellt werden. Jedoch muss erwähnt werden, dass sterische Effekte in *ortho*-substituierten Arylboronsäuren möglicherweise den Transmetallierungsschritt nachteilig beeinflussen, sodass *ortho*-substituierte Si-Rhodamine eher anhand der alternativen Synthesemethoden nach Lavis und Johnsson *et al.* hergestellt werden sollten.

3.2 Die Synthese von Technetium-99m markierten Si-Rhodaminen für die SPECT/OI-Bildgebung

In diesem Teilprojekt lag der Fokus auf der Markierung von Si-Rhodaminen mit dem klinisch relevanten Radionuklid Technetium-99m, um einen Radiotracer für die bimodale SPECT/OI-

Bildgebung zu entwickeln.² Die Ergebnisse beruhen auf eigener Vorarbeit im Rahmen der Masterthesis, in welcher ein verwandtes Si-Rhodamin zur Markierung mit Technetium-99m vorbereitet wurde. Hierzu wurden Versuchsvorschriften als Grundlage zur Bearbeitung dieses Projekts genutzt.^[195] Als Ziel soll der neue SPECT/OI-Radiotracer in der Planung und Durchführung der Fluoreszenz-gestützten Chirurgie zur Resektion von unterschiedlichen Tumoren angewendet werden.

Technetium-99m wird, wie in Kapitel **1.4.3** dargestellt, als SPECT-Nuklid für die Diagnostik eingesetzt und ist aufgrund seiner einfachen und preiswerten Verfügbarkeit das am meisten genutzte Radionuklid in der Nuklearmedizin.^[215] Anhand von Technetium-99m basierenden Radiotracern können u.a. wichtige onkologische Fragestellungen in der Brustkrebsdiagnostik beantwortet oder auch nach einem Herzinfarkt Durchblutungsstörungen sichtbar gemacht werden.^[216]

Außerdem wird eine Kombination aus nanokolloidem Technetium-99m und dem Farbstoff Patentblau V genutzt, um befallene Wächterlymphknoten in unmittelbarer Nähe zum Tumorgewebe optisch sichtbar zu machen und mithilfe von chirurgischen Operationstechniken zu entfernen. Hierfür wird kolloidales Technetium-99m mit dem blauen Farbstoff vermischt und in die Nähe der Lymphknoten im Patienten injiziert, sodass sich dieser in den benachbarten Wächterlymphknoten anreichert. Nach erfolgreicher Sichtbarmachung der Wächterlymphknoten können diese operativ resektiert werden.^[217-218] Der in diesem Teilprojekt entwickelte Radiotracer könnte ebenfalls für die Lymphszintigrafie genutzt werden. Im Rahmen dieser Arbeit wurde das Technetium-99m in der Oxidationsstufe +1 mit einem geeigneten Liganden gebunden und direkt am Si-Rhodamin-Grundgerüst positioniert. Demnach wurde das Technetium(I)-Kation nach dem bekannten „*click-to-chelate*“-Konzept von Mindt *et al.* unter Zuhilfenahme der von Sharpless *et al.* entwickelten Click-Reaktion, an einem tridentaten N,N,O-Donor gebunden.^[219-222] In der Vergangenheit wurden nur wenige Fluorophore mit Technetium-99m markiert und von den existierenden Farbstoff-basierten Radiotracern wurden noch keine niedermolekularen NIR-Farbstoffe, welche an Technetium-99m komplexiert sind, publiziert.^[223-229] Wichtig ist es folglich den fluoreszenten Radiotracer zu synthetisieren, analytisch vollständig zu charakterisieren und die Stabilität des Technetium(I)-Komplexes *in vitro* zu untersuchen, um die Verwendbarkeit des neuen SPECT/OI-Radiotracers zu evaluieren. Dabei ist es auch wichtig, dass der Technetium-Radiotracer mit den für klinische Anwendungen genutzten und handelsüblichen Synthesekits „IsoLink™“ (Mallinckrodt Medical) konform ist und somit hergestellt werden kann, um eine

² Teile dieses Kapitels wurden bereits veröffentlicht: „Rhenium and technetium-complexed silicon rhodamines as near-infrared imaging probes for bimodal SPECT- and optical imaging“, T. Kanagasundaram, C. S. Kramer, E. Boros, K. Kopka, T. Kanagasundaram, C. S. Kramer, E. Boros, K. Kopka, *Dalton Trans.* **2020**, 49, 7294–7298.

effiziente Herstellung des Radiotracers für künftige klinische Zwecke zu gewährleisten.^[230] Letztendlich dient der Komplex als Grundlage für die Weiterentwicklung biokonjugierbarer SPECT-kompatibler Si-Rhodamine, welche an geeigneten Targetvektoren geknüpft werden können.

Da alle Isotope des Technetiums radioaktiv sind und das Radionuklid für Patientenwendungen maximal nur im Mikrogramm-Maßstab verabreicht werden kann, ist sowohl für die chemische Charakterisierung der bimodalen Radiotracer (NMR, UV-Vis-NIR, IR und HR-MS) als auch für den künftigen klinischen Einsatz in der optischen Bildgebung und in der Fluoreszenz-gestützten Chirurgie zur Tumorsektion, eine nicht-radioaktive Referenzsubstanz notwendig.^[41] In diesem Fall wurde Rhenium als nicht-radioaktive Referenz für Technetium ausgewählt, da Rhenium(I) als Low-Spin-Komplex mit einer d^6 -Elektronenkonfiguration ähnliche chemische Eigenschaften wie Technetium(I) aufweist.^[230-231] Außerdem befinden sich die Metalle Rhenium und Technetium in der selben siebten Nebengruppe und besitzen, aufgrund der Lanthanoiden-Kontraktion, ähnliche Ionenradien. Des Weiteren weisen Technetium(I)- und Rhenium(I)-Komplexe eine ähnliche Koordinationschemie auf und besonders die Tricarbonylkomplexe $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ und $[\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ besitzen nahezu isostrukturelle Komplexgeometrien. Aus diesen Gründen eignen sich Rhenium(I)-Komplexe als nicht-radioaktive Analoga von Technetium(I)-Komplexen.^[230-231]

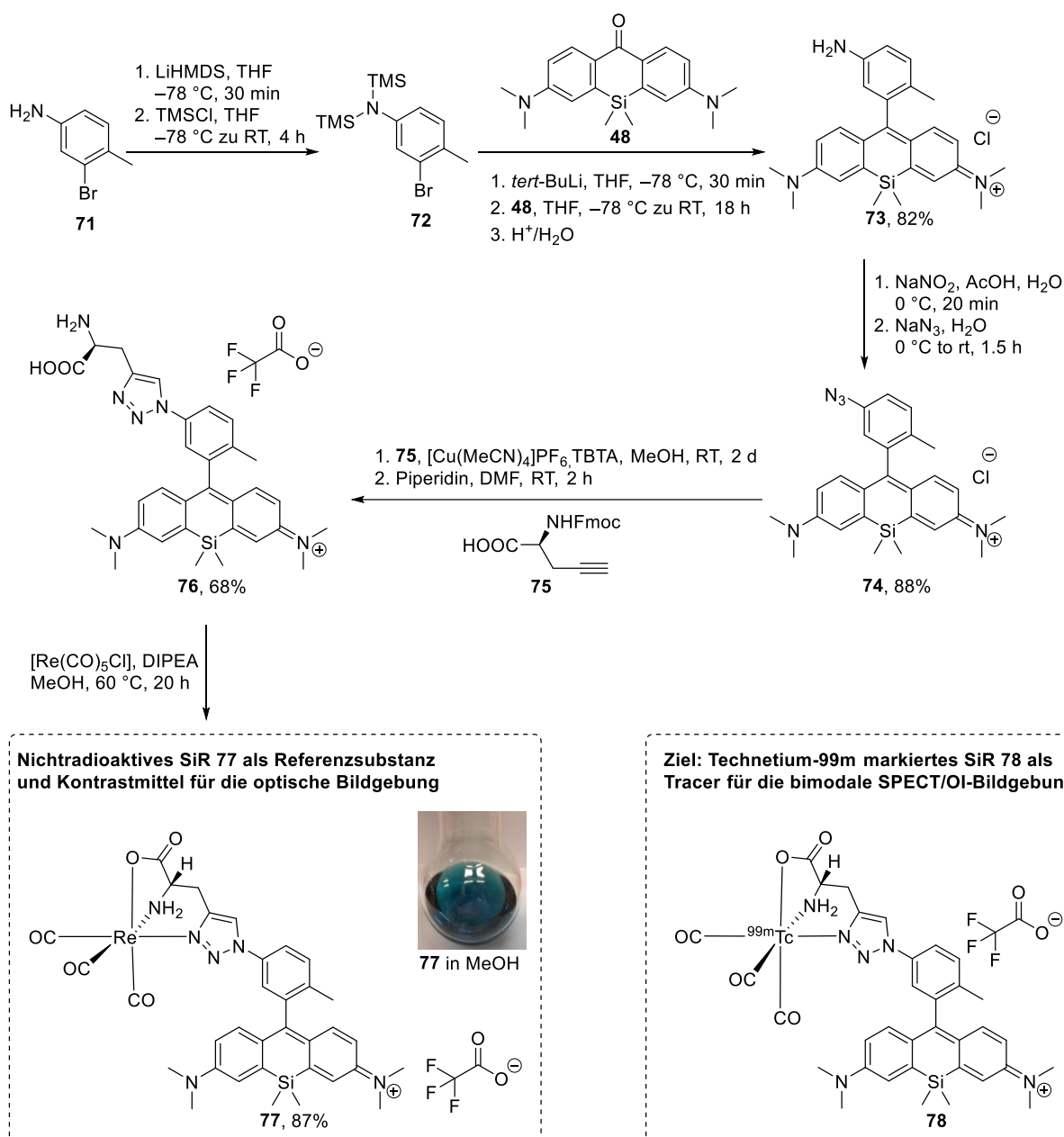
Neben hohen (radio)chemischen Ausbeuten und kurzen Reaktionssequenzen wurde das Ziel verfolgt, die erhaltenen NIR-absorbierenden und emittierenden Si-Rhodamine hinsichtlich ihrer optischen Eigenschaften zu charakterisieren, da optische Größen wie der molare Absorptionskoeffizient, die Quantenausbeute und die Photostabilitäten im wässrigen Medium für den künftigen Einsatz in der Fluoreszenz-gestützten Chirurgie ausschlaggebend sind. So muss auch untersucht werden, ob der Rhenium(I) bzw. Technetium(I)-Komplex trotz des großen Abstands zum Si-Rhodamin-Grundgerüst negative Auswirkungen auf die optischen Eigenschaften (z.B. die Reduktion der molaren Absorptionskoeffizienten und der Quantenausbeute) besitzt.

In Schema 13 ist der Syntheseplan des Rhenium(I)- **77** und Technetium(I)-Komplexes **78** veranschaulicht. Neben dem Si-Xanthon **48**, dessen Zweischnitt-Synthese bereits im vorangegangenen Kapitel gezeigt wurde, umfasst die Herstellung des Rhenium(I)- und Technetium(I)-Komplexes eine Reaktionssequenz mit fünf Syntheseschritten. Die synthetisierten Si-Rhodamine wurden mittels $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -NMR-, UV-Vis-NIR- und IR-Spektroskopie aber auch mittels HR-ESI-MS charakterisiert.

Zur Synthese des chelatisierenden Si-Rhodamins **76** wurde zunächst nach Bertozzi *et al.* ein Amin-funktionalisiertes Si-Rhodamin **73** hergestellt. Ausgehend vom kommerziell erhältlichen

3. Ergebnisse und Diskussion

3-Brom-4-methylanilin (**71**) wurden die Aminogruppen für die anstehende nukleophile Additionsreaktion mit dem Si-Xanthon **48** durch Trimethylsilyl(TMS)-Gruppen geschützt.^[200]



Schema 13: Die mehrstufige Reaktionssequenz zur Darstellung des auf Rhenium(I)-basierenden Si-Rhodamins **77** und des Technetium-99m radiomarkierten Si-Rhodamins **78**, ausgehend vom kommerziell erhältlichen 3-Brom-4-methylanilin (**71**).

Die basenstabilen TMS-Gruppen erweisen sich für die Aminogruppen als besonders nützlich, da diese Gruppen durch Zugabe einer Säure, unter milden Bedingungen, abgespalten werden können. Das kommerziell erhältliche 3-Brom-4-methylanilin (**71**) wurde, unter Schlenk-Bedingungen mit der Base Lithiumhexamethyldisilazid (LiHMDS) bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ deprotoniert und

anschließend bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ mit Trimethylsilylchlorid (TMSCl) versetzt und noch vier Stunden bei Raumtemperatur gerührt. So wurde das TMS-geschützte Amin **72** erhalten.

Das ^1H -NMR des Rohprodukts **72** ergab eine mono-, di- und trisubstituierte TMS-Schätzung im Verhältnis von 7:14:4. Trotz einer Mischung des mono-, di- und trisubstituierten und TMS-geschützten Anilins wurde **72** ohne weitere Reinigung in der nächsten Reaktion eingesetzt.

Für die nukleophile Addition des TMS-geschützten Anilins (sieben Äquivalente) an das Si-Xanthon **48** wurde **72** in einem Lithium-Halogen-Austausch mit *tert*-Butyllithium (14 Äquivalente) $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ versetzt. Anschließend wurde das Si-Xanthon **48** bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ dazugegeben und die Reaktion auf Raumtemperatur erwärmt. Nach anschließender Zugabe von Salzsäure (1 M) wurde die dunkelblaue Reaktionslösung wässrig aufgearbeitet. Nach säulenchromatographischer Reinigung (DCM/MeOH 99:1 zu 88:12 auf Kieselgel) wurde das Amin-funktionalisierte Si-Rhodamin **73** mit einer akzeptablen Ausbeute von 82% synthetisiert. Die ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren von **73** zeigen die Abwesenheit der TMS-Gruppen und somit eine erfolgreiche Abspaltung der TMS-Gruppen. Außerdem zeigen die NMR-Spektren eine erfolgreiche Synthese von **73** und die HPLC-chromatographische Analytik eine hohe chemische Reinheit von über 96%.

Im nächsten Schritt wurde die Aminogruppe des Si-Rhodamins **73** zum entsprechenden Azid **74** konvertiert. Dieser Schritt erfolgte nach der herkömmlichen Methode mit Natriumnitrit als Diazotierungsreagenz in einer Mischung aus Essigsäure und Wasser (Verhältnis 3:1) und der anschließenden Umsetzung des in situ entstandenen Diazoniumsalzes mit Natriumazid.^[200] Das Si-Rhodamin **74** konnte nach säulenchromatographischer Reinigung (DCM/MeOH 99:1 zu 99:10 auf Kieselgel) analysenrein mit einer chemischen Ausbeute von 88% im 106 Milligrammmaßstab synthetisiert werden.

Im nächsten Schritt wurde die Kupfer-katalysierte [3+2]-Azid-Alkin Click-Reaktion nach Sharpless *et al.* durchgeführt (CuAAC: engl.: „*copper(I)-catalyzed alkyne-azide cycloaddition*“).^[219-220] Als Alkin wurde das *L*-Propargylglycin-Derivat **75** genutzt, da *L*-Propargylglycin in den nachfolgenden Reaktionen das Rhenium(I)- bzw. das Technetium(I)-Kation komplexieren soll. Es ist bereits bekannt, dass Propargylglycin-Einheiten durch Bildung des entsprechenden 1,4-disubstituierten 1,2,3-Triazols aus der CuAAC-Click Reaktion, Übergangsmetalle wie Rhenium(I)- und Technetium(I) koordinieren können. Das gebildete 1,2,3-Triazol **76** fungiert als tridentater N,N,O-Ligand für die Komplexbildung des Rhenium(I) oder Technetium(I).^[221-222, 232]

Um ein solches komplexierungsfähiges Si-Rhodamin **76** herzustellen, wurden verschiedene Bedingungen zur erfolgreichen Umsetzung des Azids **74** mit *L*-Propargylglycin untersucht. In Tabelle 7 sind die Ergebnisse der CuAAC-Cycloadditionen gezeigt.

Tabelle 7: Reaktionsbedingungen der CuAAC zur Umsetzung des Azid-funktionalisierten Si-Rhodamins **74** mit *L*-Propargylglycin-Derivaten zum entsprechenden 1,2,3-Triazol-funktionalisierten Si-Rhodamin **76**.

Cu-Katalysator	Solvent	Bedingungen	Alkin	Ausbeute 76
Cu(II)(SO) ₄ ·5 H ₂ O (1 Äq) / Natriumascorbat (4 Äq.)	H ₂ O	RT, 18 h	<i>L</i> -Propargylglycin	k. U.
Cu(I)(MeCN) ₄ PF ₆ (1 Äq) / TBTA (1 Äq.)	MeOH	RT, 3 d	<i>L</i> -Propargylglycin	18%
Cu(I)(MeCN) ₄ PF ₆ (0.1 Äq) / TBTA (0.1 Äq.)	MeOH	RT, 2 d	Fmoc- <i>L</i> -Propargylglycin	68%

Unter der konventionellen Methode der CuAAC-Reaktion mit dem Katalysatorsystem Cu(II)(SO)₄·5 H₂O (1 Äquivalente) und dem Reduktionsmittel Natriumascorbat (4 Äquivalente) konnte nach 18 Stunden bei Raumtemperatur keine Bildung des entsprechenden 1,2,3-Triazols mit dem ungeschützten *L*-Propargylglycin beobachtet werden.^[220] Aus diesem Grund wurden die Bedingungen zur Click-Reaktion von Bertozzi *et al.* übernommen.^[200, 233] In diesem Fall wurde eine direkte Kupfer(I)-Quelle mit dem Tetrakisacetonitrilkupfer(I)hexafluorophosphat und dem Liganden Tris[(1-benzyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl]amin) (TBTA) für die Click-Reaktion verwendet. Mithilfe dieses Katalysatorsystems konnte das 1,4-disubstituierte 1,2,3-Triazol **76** nach zwei Tagen Reaktionszeit erhalten werden. Der Verbrauch des Azids wurde mittels ESI-MS (positiver Modus) verfolgt und die lange Reaktionszeit ist wohl auf den sperrigen Liganden am Kupfer(I)-Komplex zurückzuführen, welcher die Reaktionsgeschwindigkeit reduziert. Das ungeschützte *L*-Propargylglycin führte zur Bildung des entsprechenden 1,2,3-Triazols **76** mit einer chemischen Ausbeute von lediglich 18%.

Das Amin-geschützte Fmoc-*L*-Propargylglycin wurde mithilfe der Säulenchromatographie (DCM/MeOH 96:4 zu 80:20 auf Kieselgel) aufgereinigt und mit einer chemischen Ausbeute von akzeptablen 87% erhalten. Anschließend wurde die Abspaltung der Fmoc-Gruppe mit dem sekundären Amin Piperidin in DMF durchgeführt. Das Si-Rhodamin **76** wurde nach HPLC-Aufreinigung (10–95% MeCN/H₂O, linearer Gradient in 32 Minuten, mit 0.1% v/v Trifluoressigsäure (TFA) als Additiv, System 1) mit einer akzeptablen chemischen Ausbeute von 68% erhalten. Der Erhalt der geringeren chemischen Ausbeute des 1,2,3-Triazols **76** bei Nutzung des *L*-Propargylglycin ist wohl auf die begrenzte Löslichkeit von *L*-Propargylglycin in Methanol zurückzuführen. Die Untersuchung des 1,2,3-Triazols **76** in der analytischen HPLC zeigt eine hohe chemische Reinheit von über 98%.

Der komplexierfähige tridentate Ligand **76** wurde nun nach einer Vorschrift von Benoit *et al.* mit Pentacarbonylchlororhenium(I) bei 60 °C in Methanol mit DIPEA als Base umgesetzt.^[234] Nach wässriger Aufarbeitung wurde das Rohprodukt mithilfe einer geeigneten Methode mittels HPLC (10–95% MeCN/H₂O, linearer Gradient in 32 Minuten, mit 0.1% v/v TFA als Additiv,

System 1) aufgereinigt, um eine hohe chemische Reinheit zu erzielen. Der Rhenium-Komplex **77** konnte folglich mit einer chemischen Ausbeute von 87% mit Trifluoracetat als Gegenion erhalten werden. Eine hohe chemische Reinheit konnte anhand der analytischen HPLC nachgewiesen werden. HR-MS-Experimente zeigen eindeutig das Molekülion $[M]^+$ mit $m/z=823.2085$ (berechnet: $m/z=823.2068$) mit dem dazugehörigen Isotopenmuster aufgrund der natürlich vorkommenden Isotope des Rheniums ^{185}Re und ^{187}Re .

In Abbildung 7 und Tabelle 8 ist ein Vergleich der $^1\text{H-NMR}$ -Spektren des Liganden **76** und des Rhenium-Komplexes **77** in deuteriertem Methanol und eine Auswahl der charakteristischen chemischen Protonenverschiebungen gezeigt.

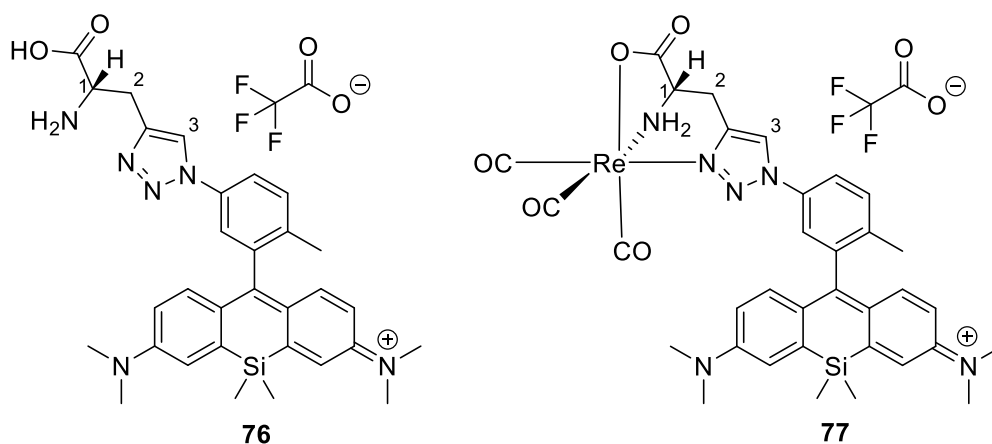


Abbildung 7: Chemische Strukturformeln des Liganden **76**, des Rhenium(I)-Komplexes **77** und die Nummerierung charakteristischer Protonen zur Analyse des $^1\text{H-NMR}$ Spektrums (Tabelle 8).

Aus Tabelle 8 wird ersichtlich, dass nach der 1,4-disubstituierten 1,2,3-Triazolbildung ein zusätzliches Aromatensignal als Singulett entsteht. Dabei ist die chemische Verschiebung bei $\delta=8.49$ ppm charakteristisch für die 1,2,3-Triazol-Einheit von **76** und für den Rhenium-Komplex **77** bei $\delta=8.63$ ppm. Außerdem lässt sich anhand der chemischen Verschiebungen erkennen, dass nach der Komplexbildung mit Rhenium(I) die Signale der ausgewählten Protonen in Richtung Tieffeld verschoben werden. Diese Tieffeldverschiebung ist wohl aufgrund des elektronenarmen Charakters des Rhenium(I)-Kations zurückzuführen. Wie erwartet wird, sind in Methanol- d_4 die Amino-Protonen des Liganden **76** aufgrund des schnellen D(Deuterium)-H(Protium)-Austausches nicht sichtbar. Interessant ist jedoch, dass nach der Komplexbildung des Liganden **76** mit Rhenium(I) die Protonen an der freien Aminogruppe chemisch nicht mehr äquivalent sind und nun mit einer chemischen Verschiebung bei $\delta=5.27$ ppm und 5.97 ppm erscheinen. Dies deutet auf einen langsameren D-H-Austausch nach Komplexbildung mit Rhenium(I) in Methanol- d_4 hin. Diese Beobachtungen wurden auch in verwandten Glycin-1,2,3-Triazol-Einheiten in anderen Rhenium(I)-Komplexen festgestellt.^[222, 235-236]

Tabelle 8: Die vom Liganden **76** und dem Rhenium(I)-Komplex **77** aus Abbildung 7 markierten Protonen und deren chemische Verschiebungen in deuteriertem Methanol bei Raumtemperatur.

Proton	Ligand 76		Re-Komplex 77	
	δ [ppm]	J [Hz]	δ [ppm]	J [Hz]
1	4.41	7.3, 5.0	4.14	3.7
2	3.41	15.8, 5.0	3.46	-
	3.50	15.8, 7.3		
3	8.49	-	8.63	-
NH	-	-	5.97	10.8, 5.5
NH	-	-	5.27	11.3

Der Vergleich der Infrarotspektroskopie-Spektren des Liganden **76** und des Rhenium-Komplexes **77** zeigt eindeutig das Auftreten und die Präsenz der CO-Streckschwingung der Carbonylgruppen am Rhenium(I)-Komplex. Aufgrund einer facialen Anordnung des Rhenium(I)-Komplexes **77** gemäß $M(\text{fac-L})_3(\text{CO})_3$ und somit einer C_{3v} -Symmetrie sind zwei Schwingungsbanden der Carbonyl-Gruppen zu erwarten. Diese Streckschwingungen sind im IR-Spektrum bei den Wellenzahlen $\nu=1889\text{ cm}^{-1}$ und 2022 cm^{-1} eindeutig zu erkennen. Im Vergleich zur freien Kohlenstoffmonoxid-Streckschwingung bei $\nu=2143\text{ cm}^{-1}$ liegen die Werte der CO-Streckschwingungen aufgrund der Besetzung der antibindenden Orbitale und der damit resultierenden schwächeren Bindung zwischen dem Rhenium(I)-Metall und der Carbonylgruppen bei niedrigeren Energien.^[237]

Im nächsten Schritt wurden die optischen Eigenschaften aller hergestellten Si-Rhodamine analysiert (Tabelle 9). Dabei wurden die Farbstoffe in Methanol, PBS ($\text{pH}=7.4$) und deionisiertem Wasser mit einem Zusatz von Ethanol (5%) gemessen.

Im Allgemeinen lässt sich erkennen, dass mit Ausnahme vom Amin-funktionalisierten Si-Rhodamin **73** die Si-Rhodamine Strahlung im tiefroten bis NIR-Bereich zwischen 650 nm und 675 nm absorbieren und emittieren (Anregungswellenlänge: 650 nm). Der Einfluss der unterschiedlichen polar protischen Lösungsmittel auf die Absorptions- und Emissionsmaxima ist gering, sodass solvatochromatische Einflüsse möglicherweise einen marginalen Einfluss auf die Absorptions- und Emissionsmaxima haben. Zudem zeigt sich, dass die molaren Absorptionskoeffizienten höhere Werte in Methanol ($63.900\text{--}156.500\text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) als in den wässrigen Lösungen PBS und $\text{H}_2\text{O}/\text{EtOH}$ (5%) ($22.100\text{--}123.700\text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) besitzen. Je höher das Substitutionsmuster am Si-Rhodamin ist, desto geringer ist der molare Absorptionskoeffizient. Somit hat der Rhenium-Komplex **77** die niedrigsten molaren Absorptionskoeffizienten im Vergleich zu den anderen Farbstoffen ($22.100\text{--}39.100\text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$).

3. Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 9: Die optischen Eigenschaften der synthetisierten Si-Rhodamine in verschiedenen Lösungsmitteln. Die Anregung der Si-Rhodamine fand bei einer Wellenlänge von $\lambda_{\text{Anregung}}=650$ nm statt. Als Referenzfarbstoff diente Tris-(2,2'-bipyridyl)-ruthenium(II)-chlorid $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]\text{Cl}_2$ in Wasser ($\Phi_{\text{F}}=0.042$).^[238]

SiR	Lösungsmittel	λ_{abs} [nm]	λ_{em} [nm]	ϵ_{max} [$\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$]	Φ_{F}
73	MeOH	653	-	91.900	-
	PBS ($\text{pH}=7.4$)	651	-	77.300	-
74	MeOH	651	670	156.500	0.18
	H ₂ O/EtOH (5%)	651	670	123.700	0.10
	PBS ($\text{pH}=7.4$)	651	671	99.000	0.12
76	MeOH	655	672	79.900	0.13
	H ₂ O/EtOH (5%)	653	671	73.890	0.10
	PBS ($\text{pH}=7.4$)	655	672	79.900	0.13
77	MeOH	654	672	63.900	0.14
	H ₂ O/EtOH (5%)	654	674	22.100	0.10
	PBS ($\text{pH}=7.4$)	654	669	39.100	0.09

Ein möglicher Grund für diese Feststellung kann eine kompetitive Reduktion der Absorptionen durch Metall-to-Ligand-Charge-Transfer(MLCT)-Effekten sein. Jedoch wurden keine weiteren Experimente durchgeführt, um diesen Effekt der reduzierten Absorption näher zu beleuchten, da ähnliche Beobachtungen bereits in anderen Veröffentlichungen beschrieben wurden.^[180, 225, 239]

Die Stokes-Verschiebungen der Si-Rhodamine liegen zwischen (15–20 nm) und zeigen somit keine große Abweichung. Dies ist auf eine kleine und somit vernachlässigbare Änderung des Dipolmoments zwischen dem Grund- und dem angeregten Zustand zurückzuführen.

Die durch relative Bestimmungen erhaltenen Quantenausbeuten zeigen Werte zwischen 13–18% in Methanol und 9–13% in den wässrigen Lösungen (PBS ($\text{pH}=7.4$); H₂O/EtOH (5%)).

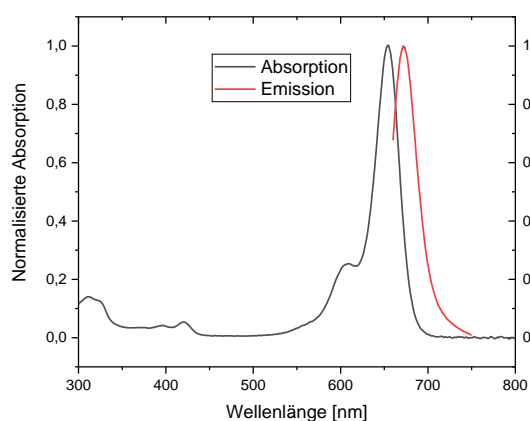
In Abbildung 8 sind die UV-Vis-NIR-Spektren des Liganden **76** (Abbildung 8a) und des Rhenium-Komplexes **77** (Abbildung 8b) in Wasser/Ethanol (5%) gezeigt. Die Emissionsspektren der beiden Farbstoffe wurde mit einer Anregungswellenlänge von 650 nm gemessen.

Beide Spektren zeigen die für die organischen Farbstoffe typischen spiegelsymmetrischen Absorptions- und Emissionskurven, welche für die Si-Rhodamine charakteristisch sind und stellen zudem auch eine gewisse Äquivalenz zu den Spektren von Si-Rhodaminen dar, welche in der Literatur zu finden sind.^[131-132, 150]

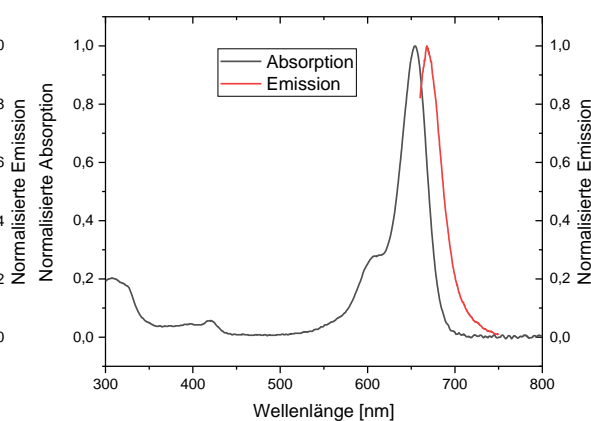
3. Ergebnisse und Diskussion

Die Absorptionsspektren der beiden Si-Rhodamine zeigen ein Absorptionsmaximum bei etwa 654 nm und eine maximale Emission bei ungefähr 674 nm. Der Vergleich der Quantenausbeuten in H₂O/EtOH (5%) zeigt überraschenderweise, dass es keinen signifikanten Unterschied zwischen dem Liganden **76** ($\Phi_F=10\%$) und dem Rhenium-Komplex **77** ($\Phi_F=10\%$) gibt. Während bereits festgestellt wurde, dass der molare Absorptionskoeffizient vom Rhenium-Komplex **77** eine dramatische Reduktion erfährt (73.890 M⁻¹ cm⁻¹ zu 22.100 M⁻¹ cm⁻¹) hat die Komplexbildung wohl keinen negativen Einfluss auf die Quantenausbeute des Si-Rhodamins **77**. Verglichen mit den von der FDA zugelassenen Farbstoffe Protoporphyrin IX (PPIX; $\Phi_F=8\%$ in Wasser) oder dem NIR-Farbstoff Indocyaningrün (ICG; $\Phi_F=9\%$ in Blutserum), welche in der Fluoreszenz-gestützten Chirurgie Anwendung finden, besitzen die beiden Si-Rhodamine ebenfalls eine vergleichsweise hohe Quantenausbeute im wässrigem Medium.^[240-241] Somit sind die synthetisierten Farbstoffe zumindest in diesen Eigenschaften vergleichbar mit den klinisch zugelassen Farbstoffen.

a) UV-Vis-NIR-Spektrum von **76**



b) UV-Vis-NIR-Spektrum von **77**



c) IVIS-Aufnahme verschiedener Stoffmengen von **77** in PBS/EtOH (5%)

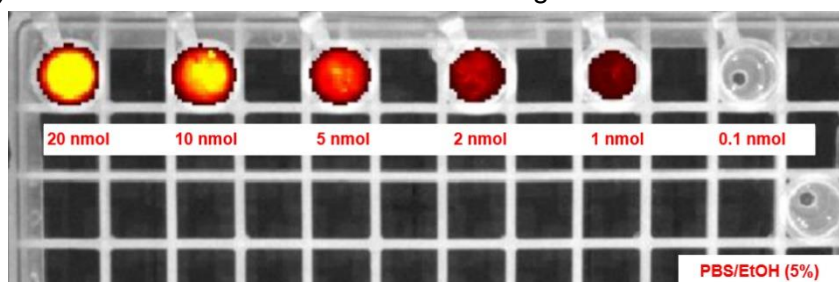


Abbildung 8: UV-Vis-NIR-Spektren des Liganden **76** (a) und des Rhenium(I)-Komplexes (b) in Wasser/Ethanol (5%) bei Raumtemperatur. Die Anregung der Si-Rhodamine fand bei einer Wellenlänge von $\lambda=650$ nm statt. c) Eine IVIS-Bildgebungsaufnahme von **77** mit verschiedenen Stoffmengen des Rhenium-Komplexes **77** in PBS/EtOH (5%). Die Proben wurden mit einer Wellenlänge von $\lambda=640$ nm angeregt und die resultierende Emission bei einer Wellenlänge von $\lambda=710$ nm aufgenommen.

Für künftige *in vitro* und vor allem *in vivo* Experimente ist das Emissionsdetektionslimit des Rhenium-Komplexes **77** ausschlaggebend, um aussagekräftige Emissionssignale für die Fluoreszenz-gestützte Chirurgie zu erhalten und diese zu analysieren.

Ebenfalls sind diese Untersuchungen nötig, um Informationen darüber zu erhalten, wie hoch die zu injizierende (Stoff-)Menge an Farbstoff beispielsweise im Patienten betragen sollte, um in der optischen Bildgebung geeignete Aufnahmen zu erhalten. Aus diesem Grund wurden, mithilfe eines Kleintier-bildgebenden Aufnahmesystems (IVIS[®]: *in vivo* imaging system; Lumina Series II; Perkin Elmer Inc.), die Mindestmengen an Rhenium-Komplex **77** in PBS mit einem Zusatz von 5% Ethanol bestimmt, um substanzielle Informationen zum optischen Detektionslimit zu erhalten (Abbildung 8c). Hierzu wurden unterschiedliche Proben mit Konzentrationen zwischen 1 μM –200 μM und Stoffmengen zwischen 0.1 nmol–20 nmol in entsprechenden Eppendorf[®]-Reaktionsgefäßen genutzt. Die Anregung der Proben wurde mit einem im Aufnahmegerät integrierten Anregungslicht, mit einer Wellenlänge von 640 nm angeregt. Da es für das Si-Rhodamin keine verfügbaren Emissionsfilter im Wellenlängenbereich von ca. 660 nm gab, wurden die entstehenden Emissionen mit dem einem Emissionsfilter bei 710 nm aufgenommen.

Die Probenlösungen aus Abbildung 8c zeigen, dass eine Mindestmenge von 1 nmol bzw. eine Mindestkonzentration von 1 μM nötig ist, um den Rhenium-Komplex **77** im Aufnahmegerät zu detektieren. Jedoch sollten für *in vivo* Experimente höhere Mengen an **77** genutzt werden, da die Verteilung des Farbstoffs im metabolisierenden Organismus und die Anreicherung des Farbstoffs in unterschiedlichen Geweben aber auch das Gewicht des zu untersuchenden Organismus (Maus, Ratte etc.) die lokale Konzentration erniedrigt und somit das Vermögen zur Emission erniedrigt. So sollten für die optische Kleintier-Bildgebung Lösungen mit mindestens 50 μM bzw. 5 nmol Rhenium-Komplex **77** injiziert werden, um ausreichende und verwertbare Emissionssignale zu erhalten. Diese Detektionsgrenzen sind im Einklang mit bereits veröffentlichten Daten von anderen klinisch eingesetzten Farbstoffen mit ähnlichen Quantenausbeuten (z.B. Indocyaningrün aber auch Si-Rhodaminen).^[242-243]

Interessant ist auch, dass trotz der geringen Emission des Rhenium-Komplexes **77** bei 710 nm (Abbildung 8b) dennoch ausreichend verwertbare Emissionssignale mithilfe des IVIS-Aufnahmegerätes erhalten werden können.

Da es für klinische Anwendungen insbesondere in der Fluoreszenz-gestützten Chirurgie von hoher Bedeutung ist, dass die verwendeten Fluoreszenzfarbstoffe eine hohe Photostabilität bzw. eine große Beständigkeit gegen das Photobleichen aufweisen, müssen die hierfür verwendeten Farbstoffe dementsprechend untersucht werden. Aus diesem Grund wurden die synthetisierten Si-Rhodamine **73**, **74**, **76** und **77** in H₂O/EtOH (5%) gelöst und anschließend deren Stabilitäten nach Bestrahlung mit NIR-Licht untersucht. Dabei betragen die Konzentrationen der Probenlösungen zwischen 0.8 μM und 1 μM . Der kommerziell erhältliche

Referenzfarbstoff Nilblau A wurde als Referenz verwendet, da dieser Farbstoff für seine ausgezeichnete Photostabilität bekannt ist.^[244] In Abbildung 9 sind die Ergebnisse der Photostabilitätsuntersuchungen bis nach zwei Stunden Bestrahlung gezeigt.

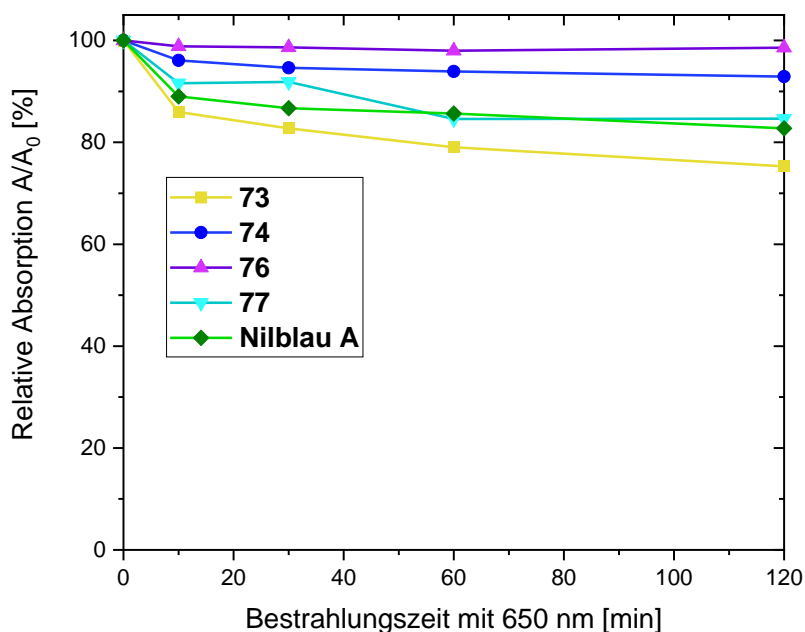


Abbildung 9: Photostabilitätsexperimente der synthetisierten Si-Rhodamine in H₂O/EtOH (5%) nach Bestrahlung der Proben mit einer Wellenlänge von $\lambda=650$ nm mithilfe eines gepulsten Lasers (20 kW, Pulsbreite <math><10 \mu\text{s}</math>). Nach ausgewählten Zeitpunkten bis maximal zwei Stunden wurden Absorptionsspektren aufgenommen. Die Konzentrationen der Proben betragen zwischen 0.8 μM und 1 μM .

Die Bestrahlung der Proben erfolgte mit einer Wellenlänge von 650 nm, da hier gemäß der Absorptionsspektren eine hohe Absorption der Farbstoffe erwartet wird. Zudem wurde als Strahlungsquelle ein gepulster Laser (20 kW, Pulsbreite <math><10 \mu\text{s}</math>) verwendet.

Die Absorptionskurven aus Abbildung 9 zeigen für alle Si-Rhodamine eine hohe Photostabilität, da nach zwei Stunden eine Abnahme der Absorption von lediglich 24% für das Amin-funktionalisierte Si-Rhodamin **73** festgestellt wurde. Die für die bimodalen Anwendungen relevanten Si-Rhodamine **76** (Absorptionsabnahme nach zwei Stunden: 4%) und **77** (Absorptionsabnahme nach zwei Stunden: 15%) zeigen nach zwei Stunden Bestrahlung dagegen eine höhere Photostabilität als das Nilblau A. Von der exzellenten Photostabilität der Si-Rhodamine wurde ausführlich in vorangegangenen Publikationen berichtet, die hier erneut bestätigt werden kann.^[132, 150, 245] Dies ist ein wesentlicher Vorteil im

3. Ergebnisse und Diskussion

Vergleich zu Cyaninfarbstoffen wie beispielsweise das Indocyaningrün, welches trotz seiner Applikationen in der Fluoreszenz-gestützten Chirurgie, eine niedrige Photostabilität besitzt.^[246] Zur Vorbereitung von biologischen Untersuchungen wurde im nächsten Schritt die chemische Stabilität des Rhenium-Komplexes **77** in physiologischem Phosphatpuffer (PBS: $pH=7.4$) mit einem Zusatz von 5% Ethanol bei Raumtemperatur und einer Temperatur von 37 °C untersucht. In Tabelle 10 sind die Ergebnisse der Stabilitätsuntersuchungen aufgezeigt, welche mittels HPLC evaluiert wurden (Methode: 5–95% MeCN/H₂O, linearer Gradient in 20 Minuten, mit 0.1% v/v TFA als Additiv, System 4). Die Konzentration des Rhenium-Komplexes **77** in PBS/EtOH (5%) betrug 1 µM. Der Rhenium-Komplex **77** war sowohl bei Raumtemperatur als auch bei 37 °C nach einer Zeitdauer von 24 Stunden in PBS intakt, sodass weitere Dekomplexierungsexperimente mit *L*-Histidin durchgeführt wurden (Abbildung 10a). Da zusammen mit der Imidazol-Einheit das *L*-Histidin als tridentater Ligand eine hohe Affinität zu Rhenium(I)- und Technetium(I)-Komplexen besitzt und zusätzlich in einem hohen Überschuss im menschlichen Organismus auftritt, gelten Verdrängungsexperimente mit dieser Aminosäure als sinnvoll.^[247-248] In einem tausendfachen Überschuss wurde *L*-Histidin (1 mM) zum Rhenium-Komplex **77** gegeben und nach 24 Stunden bei 37 °C wurde mittels HPLC keine Dekomplexierung festgestellt (Abbildung 10b). Diese Feststellung weist auf eine hohe *in vitro* Stabilität des Rhenium-Komplexes **77** hin.

Tabelle 10: Überblick der Stabilitätsexperimente des Rhenium(I)-Komplexes **77** unter physiologischen Bedingungen in PBS/EtOH (5%) und Verdrängungsexperimente in *L*-Histidin bei verschiedenen Temperaturen und nach verschiedenen Zeitpunkten. Methode: 5–95% MeCN/H₂O, linearer Gradient in 20 Minuten, mit 0.1% v/v TFA als Additiv, System 4.

Zeit	PBS/EtOH (5%)	PBS/EtOH (5%) bei 37 °C	PBS/EtOH (5%) +1 mM <i>L</i> -Histidin bei 37 °C
1 h	>99%	>99%	>99%
3 h	>99%	>99%	>99%
6 h	>99%	>99%	>99%
24 h	>99%	>99%	>99%

3. Ergebnisse und Diskussion

In Abbildung 10 sind die HPLC-Chromatogramme der oben genannten Stabilitätsuntersuchungen gezeigt. Die normalisierten Chromatogramme zeigen keine zusätzlich gebildeten Nebenprodukte.

- a) Nach 24 Stunden: **77** in PBS bei 37 °C
bei
- b) Nach 24 Stunden: **77** in PBS/L-Histidin
37 °C

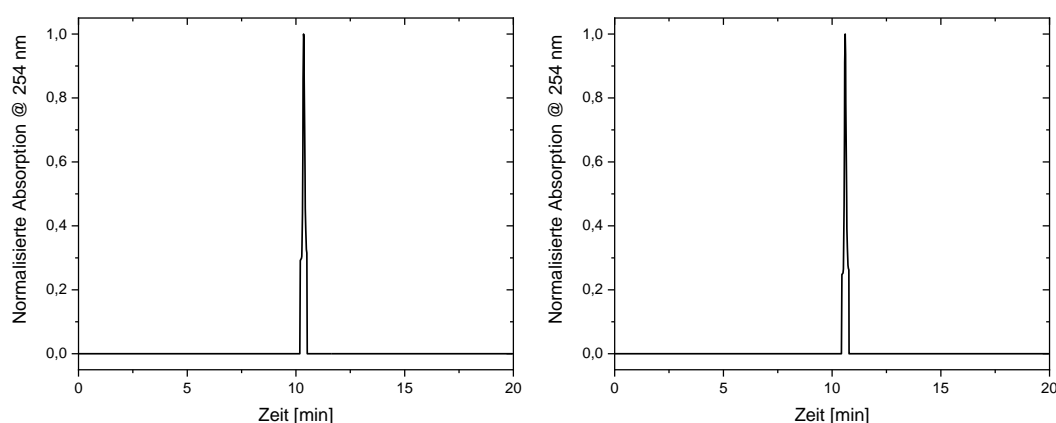
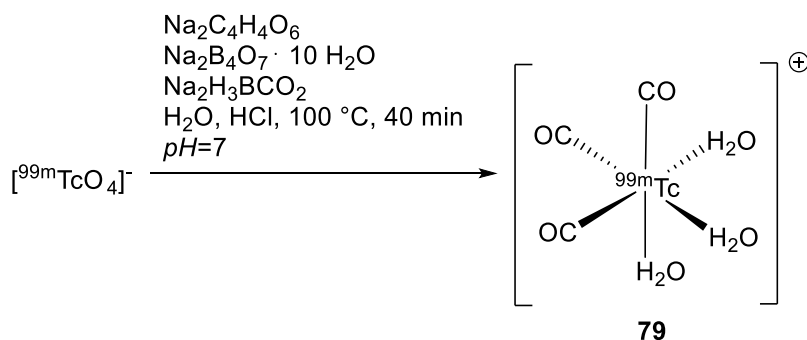


Abbildung 10: Normalisierte HPLC-Chromatogramme des Rhenium(I)-Komplexes **77**. a) Nach 24 Stunden: **77** in PBS bei 37 °C und nach 24 Stunden: **77** in PBS/L-Histidin bei 37 °C (b). Methode: 5–95% MeCN/H₂O, linearer Gradient in 20 Minuten, mit 0.1% v/v TFA als Additiv, System 4.

Aufgrund der hohen Stabilitäten des Rhenium-Komplexes **77** im wässrigen Medium, war es naheliegend, dass nach einer erfolgreichen Radiomarkierung des Liganden **76** mit Technetium-99m eine hohe *in vitro* Stabilität des resultierenden Technetium-Komplexes **78** zu erwarten ist.

Zur Radiomarkierung des Liganden **76** wurde zuerst der hochreaktive Technetium-Komplex $[\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ **79** *in situ* hergestellt. Genauer, wurde das Natriumpertechnetat $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcTcO}_4$, welches vom Technetium-99m-Generator mit einer 0.9% Natriumchlorid-Lösung eluiert wurde, zum *fac*-(Triaqua)tricarbonyl $^{99\text{m}}\text{Tc}$ technetium(I)-Komplex umgesetzt (Schema 14). Dabei erfolgte die Herstellung des nicht-radioaktiven Kits basierend auf den kommerziell erwerblichen „IsoLink™“ Kits (Mallinckrodt) für Technetium-99m Markierungen.^[249-250]

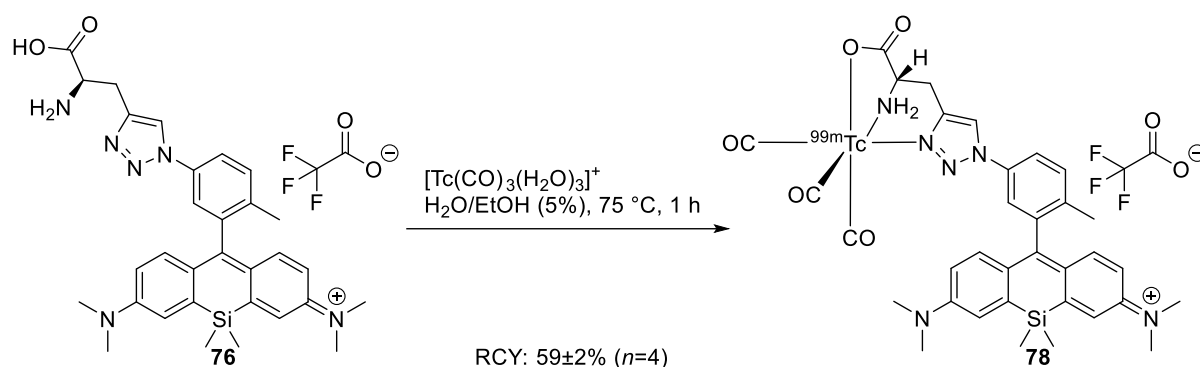


Schema 14: Reaktionsbedingungen zur Synthese des hochreaktiven $[\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ -Komplexes **79** ausgehend vom Pertechnetat TcO_4^- .

Um den hochreaktiven $[\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ -Komplex **79** herzustellen wurde zum Lyophilisat, zusammengesetzt aus Natriumtetraborat-Dekahydrat (Reduktionsmittel), Natriumborancarboxylat (Kohlenstoffmonoxid-Donor) und Natriumtartrat (Puffer) das Eluat als Pertechnetat TcO_4^- aus dem Technetium-99m-Generator in einer Natriumchlorid-Lösung hinzugegeben.^[249] Dieser Cocktail wurde nun, unter Siedehitze (100 °C), für 40 Minuten erwärmt. Anschließend wurde die Lösung abgekühlt und durch Zugabe von Salzsäure (1 M) auf einen pH-Wert von sieben neutralisiert.

Nach der erfolgreichen Synthese des $[\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ -Komplexes **79** wurde dieser wiederum zu einer Lösung des Liganden **76** (87 nmol) in $\text{H}_2\text{O}/\text{EtOH}$ (5%) dazugegeben. Die Radiomarkierung (Startaktivität: 81.4 MBq) der blauen Liganden-Lösung erfolgte bei einer Temperatur von 75 °C mit einer Reaktionszeit von einer Stunde (Schema 15). Nach anschließender HPLC-Aufreinigung wurde der $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Komplex **78** mit einer radiochemischen Ausbeute von $59 \pm 2\%$ ($n=4$) und einer hohen radiochemischen Reinheit über 98% erhalten. Die niedrige radiochemische Ausbeute ist auf die erhöhte Lipophilie des Komplexes **78** und der damit einhergehenden Radioaktivitätsverluste durch hohe Wechselwirkungen mit den für die Radiomarkierung genutzten Glasgeräten zurückzuführen. Mithilfe des herkömmlichen „shake flask-Verfahrens“ wurde schließlich der Verteilungskoeffizient in einem n -Oktan/PBS-Gemisch experimentell bestimmt. Der Verteilungskoeffizient des $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Komplexes **78** lag bei $\log D_{\text{pH}=7.4} = 1.11 \pm 0.02$ ($n=10$) und bestätigt somit eine erhöhte Lipophilie. Wenn der Komplex **77** nun strukturell zu einem biokonjugierbaren Si-Rhodamin derivatisiert wird, so kann bei Einführung eines stark wasserlöslichen Targetvektors (z.B. PSMA-1007-Bindungsmotiv) die Hydrophilie des neuen Technetium-Komplexes signifikant erhöht werden. Diese Strategie kann zur Reduktion von unerwünschten unspezifischen Bindungen beispielsweise an Zellmembranen oder Proteinen führen.^[251-252] Außerdem kann somit die Wahrscheinlichkeit eines hepato biliären Metabolismus des Radiotracers gesenkt werden, welcher den Radiotracer in eine wasserlösliche Verbindung umwandelt und letzten Endes über den Darm eliminiert.^[253-255] Die

Erhöhung der Wasserlöslichkeit verschiebt dann den hepatobiliären Metabolismus in Richtung der renalen Exkretion.^[253]



Schema 15: Radiomarkierung des Liganden **76** mit dem hochreaktiven $[\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ -Komplex **79** zum Technetium(I)-Komplex **78**.

In Abbildung 11 sind die HPLC Chromatogramme des HPLC aufgereinigten und radiochemisch reinen $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Komplexes **78** und des chemisch reinen nicht-radioaktiven Rhenium-Komplexes **77** dargestellt (5–95% MeCN/H₂O, linearer Gradient in 20 Minuten, mit 0.1% v/v TFA als Additiv, System 4).

In Abbildung 11 zeigt das Chromatogramm des $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Komplexes **78** eine ähnliche Retentionszeit ($R_t=12.6$ Minuten) des nicht-radioaktiven Rhenium-Komplexes **77** ($R_t=12.5$ Minuten) in der UV-Spur bei 254 nm. Diese Feststellung weist auf die erfolgreiche Synthese und Existenz des $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Komplexes **78** hin.

Da der Rhenium-Komplex **77** hohe Stabilitäten in Dekomplexierungsexperimenten mit *L*-Histidin zeigte, ist vom $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Komplex **78** ebenfalls eine hohe Stabilität zu erwarten. Aus diesem Grund wurde die Stabilität des $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Komplexes **78** in humanem Serum auf etwaige Dekomplexierungen und der Rückoxidation zu Technetium-Spezies mit höherer Oxidationsstufe untersucht.

Demnach wurden die Stabilitäten bei Raumtemperatur und bei 37 °C mittels Radio-Dünnschichtchromatographie über eine Zeitdauer von 24 Stunden (Laufmittel: Wasser/Eisessig (95:5) auf „*reversed-phase*“ Dünnschichtchromatographie(DC)-Platten) untersucht.

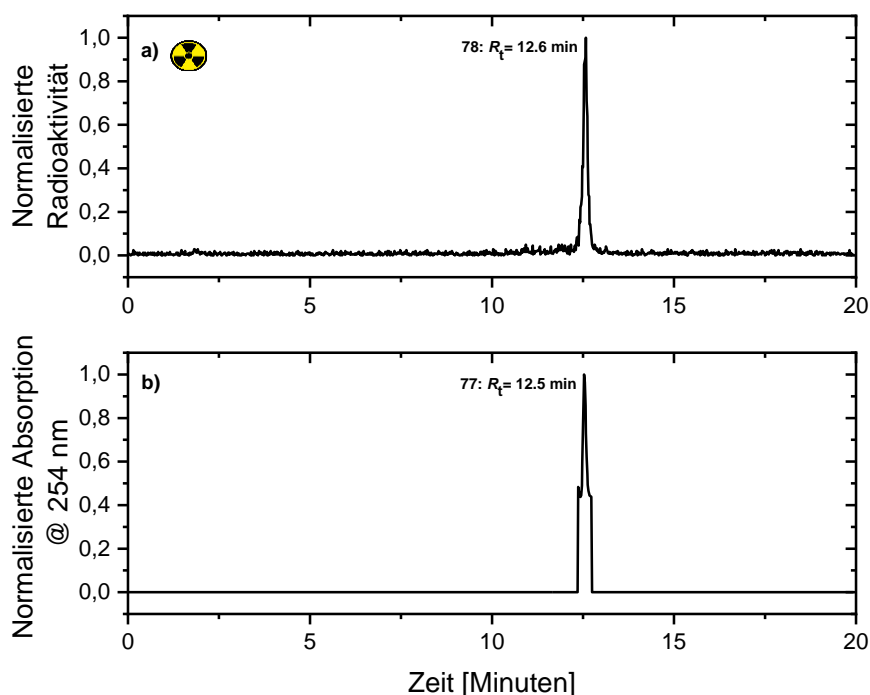


Abbildung 11: Identitätsnachweis von ^{99m}Tc -Komplex **78**. Überblick der normalisierten Radio-HPLC-Chromatogramme a) des Technetium(I)- ^{99m}Tc -Komplexes **78** [γ -Detektion, Zählrate] mit $R_t=12.6$ Minuten und b) des Rhenium(I)-Komplexes **77** als nicht-radioaktive Referenzsubstanz [UV-Detektion, 254 nm] mit $R_t=12.5$ Minuten. Methode: 5–95% MeCN/H₂O, linearer Gradient in 20 Minuten, mit 0.1% v/v TFA als Additiv, System 4.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 11 gezeigt. Tabelle 11 zeigt, dass der ^{99m}Tc -Komplex über eine Zeitdauer von 24 Stunden hinweg kaum Dekomplexierungseigenschaften zeigt, da nach 24 Stunden sowohl bei Raumtemperatur als auch bei 37 °C über 90% des ^{99m}Tc -Komplexes **78** intakt sind.

Tabelle 11: Überblick der Stabilitätsexperimente des ^{99m}Tc -Komplexes **78** in humanem Serum nach Inkubation bei Raumtemperatur oder 37 °C nach unterschiedlichen Zeitpunkten.

Zeit	Prozentualer Anteil des intakten SiR 78 nach Inkubation in humanem Serum bei RT nach verschiedenen Zeitpunkten	Prozentualer Anteil des intakten SiR 78 nach Inkubation in humanem Serum bei 37 °C nach verschiedenen Zeitpunkten
1 h	>99%	>99%
3 h	>98%	>99%
5 h	>97%	>93%
19 h	>96%	>93%
24 h	>96%	>92%

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass der erste niedermolekulare und bimodale ^{99m}Tc -Radiotracer gebunden an einem Si-Rhodamin-Grundgerüst und mit NIR-Eigenschaften synthetisiert und vollständig charakterisiert wurde. Der NIR-Farbstoff basierte Radiotracer für die bimodale SPECT/OI Bildgebung **78** zeigt zusammen mit dem nicht-radioaktiven Rhenium-Komplex **77** aufgrund der *in vitro* Stabilitäten in humanem Serum vielversprechende Eigenschaften für eine potentielle Anwendung zur Detektion von tumorbefallenen Wächterlymphknoten und der anschließenden akkuraten Resektion der befallenen Wächterlymphknoten mittels Fluoreszenz-gestützter Chirurgie. Vorteilhaft ist auch, dass die Verwendung eines NIR-Licht absorbierenden und emittierenden Farbstoffs eine möglichst gewebeschonende Methode im Gegensatz zum heutzutage kommerziell vertriebenen Patentblau V darstellt.^[216]

3.3 Die Synthese von Si-Rhodaminen zur Radiofluorierung in SiFA-Isotopenaustauschreaktionen

Im Vergleich zu Technetium-99m markierten Radiotracern, welche in der SPECT-Bildgebung angewandt werden, versprechen Verbindungen die mit dem PET-Radionuklid Fluor-18 markiert werden, höher aufgelöste Signale in der PET-Bildgebung. Zudem erlauben PET-Aufnahmen genaue Aussagen über die quantitative Verteilung des Radiotracers im (Tumor)Gewebe.^[12-13, 15] Aus diesem Grund lag der Fokus in diesem Teilprojekt der vorliegenden Arbeit auf der Herstellung neuartiger Si-Rhodamine, welche in nachfolgenden Reaktionen mit dem klinisch relevanten PET-Radionuklid Fluor-18 ($t_{1/2}=109.7$ Minuten) radiomarkiert bzw. radiofluoriert werden sollen.

Diese Arbeiten beruhen auf Vorarbeiten von C. S. Kramer und mir, welche als Basis verwendet wurden, um das Teilprojekt zu bearbeiten.^[195, 197]

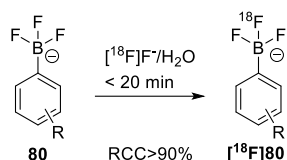
Zur Radiofluorierung von Molekülen gibt es zahlreiche unterschiedliche Methoden und Techniken.^[6, 256-257] Eine besonders effiziente Methode ist der Isotopenaustausch von Fluor-19 mit radioaktivem Fluor-18 und kann beispielsweise in Trifluoroboraten und in Organophosphanen realisiert werden (Schema 16a/b).^[258-262] Die Methoden zeichnen sich als äußerst effizient aus, da die Isotopenaustauschreaktionen in den für Radiofluorierungsmethoden unüblichem wässrigem Medium (Schema 16a/b) und in weniger als 20 Minuten Reaktionszeit stattfinden können. In Schema 16 sind bekannte Methoden des Fluor-19 und Fluor-18 Isotopenaustausches veranschaulicht. Neuerdings wurden auch äußerst effiziente Isotopenaustauschreaktionen mit Fluor-19 und radioaktivem Fluor-18 in Arylfluorosulfaten mit nahezu quantitativer radiochemischer Ausbeute bei Raumtemperatur realisiert (Schema 16c).^[263]

3. Ergebnisse und Diskussion

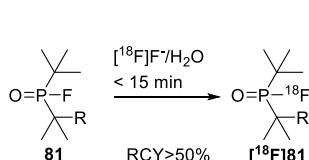
Ein Fluor-19/Fluor-18- Isotopenaustausch kann auch in sterisch gehinderten Silanen durchgeführt werden (Schema 16c). Dieser Isotopenaustausch wird somit als Silizium-Fluorid Akzeptor-Austauschreaktion (SiFA) bezeichnet.^[257, 259, 264-265] Mithilfe dieses Reaktionstyps können nahezu quantitative radiochemische Ausbeuten verbunden mit hohen molaren Aktivitäten erhalten werden.^[258-259, 262, 265]

Bekannte Möglichkeiten zum Fluor-19 und Fluor-18 Isotopenaustausch

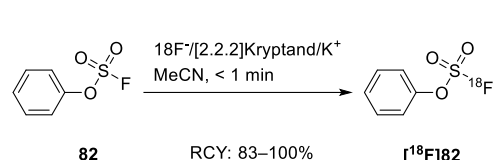
a) Aryltrifluorborate



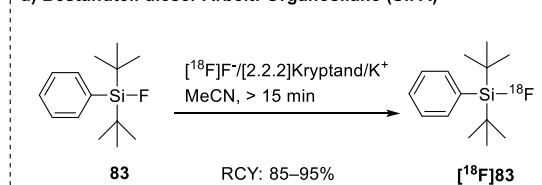
b) Organophosphane



c) Arylfluorosulfate (SuFEx)



d) Bestandteil dieser Arbeit: Organosilane (SiFA)



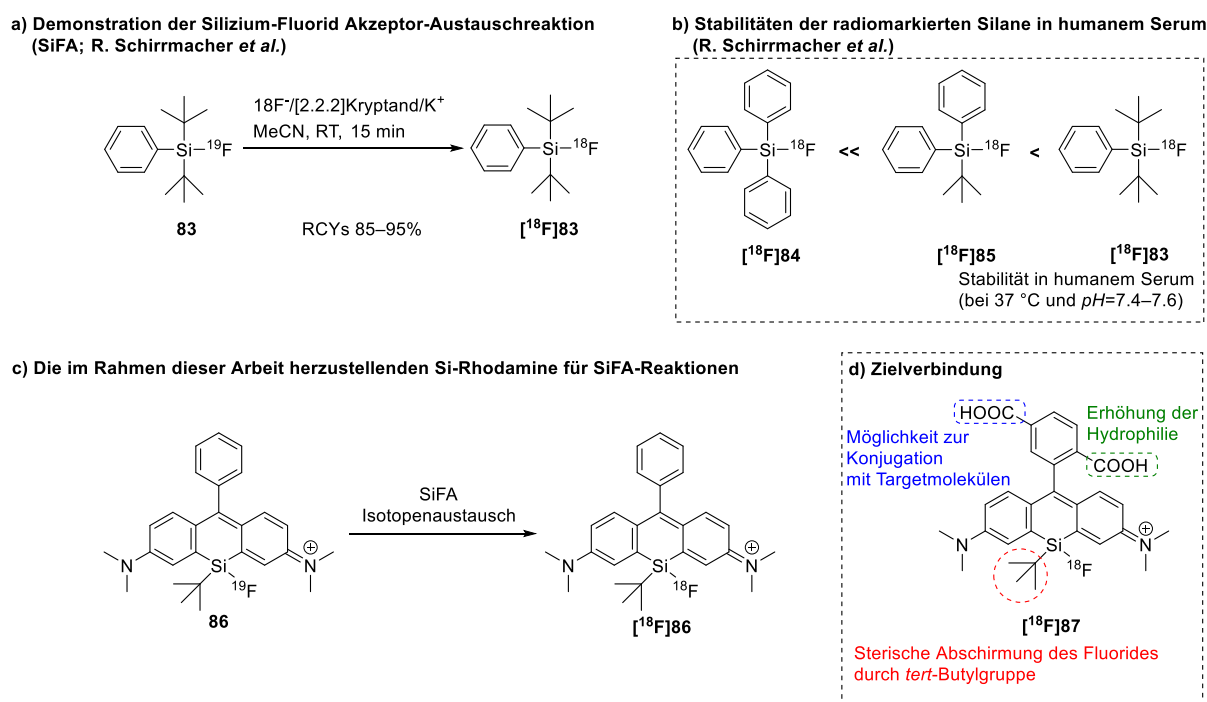
Schema 16: Überblick über die verschiedenen Möglichkeiten von Fluor-19/Fluor-18-Isotopenaustauschreaktionen in a) Aryltrifluorboraten, b) sterisch gehinderten Organophosphanen, c) Arylfluorosulfaten und d) sterisch gehinderten Organosilanen.^[257-263, 265]

Zudem wird in SiFA-Austauschreaktionen nur eine niedrige Vorläufermenge in der Größenordnung von wenigen Nanomol benötigt, was sich im Falle des Si-Rhodamins aufgrund der limitierten Verfügbarkeit als vorteilhaft erweist, da die Synthese des Si-Rhodamins lediglich im Milligrammmaßstab durchgeführt werden kann.^[266] Das Silizium weist eine sehr hohe Bindungsaffinität zu Fluoriden auf und zudem besitzt die Silizium-Fluorid-Bindung eines der stärksten Bindungen in der organischen Chemie (Bindungsenergie: $576 \pm 17 \text{ kJ/mol}$).^[267-268] In Schema 17a ist die Radiomarkierung von Di-*tert*-butylfluorophenylsilan **83** gemäß dem SiFA-Isotopenaustausch dargestellt. Diese Reaktionen versprechen radiochemische Ausbeuten zwischen 85% und 95% mit molaren Aktivitäten zwischen 1500–1700 GBq/ μmol . Der Blick auf die Stabilitäten in humanem Serum bei 37 °C zeigt, dass je sterisch anspruchsvoller die Gruppen am Silan sind, desto stabiler ist die radioaktive Verbindung gegen Defluorierung und somit wirken sterisch gehinderte Silane einer Metabolisierung *in vitro* entgegen. Die ausgeprägte Stabilität dieses Silans konnte *in vivo* in Mäusen ebenfalls nachgewiesen werden.^[265] Demnach konnte Schirmacher *et al.* nachweisen, dass sterisch gehinderte ^{18}F -markierte *tert*-Butylsilane in wässrigem Medium und humanem Blutserum stabil genug sind, um Defluorierungen zu verhindern. Defluorierungen

3. Ergebnisse und Diskussion

machen sich ansonsten durch zusätzliche Hintergrundsignale aufgrund einer erhöhten radioaktiven Fluorid-18-Aufnahme in Knochen bemerkbar.^[265]

Aus diesen Gründen ist es strategisch vorteilhaft eine Silizium-Fluorid Einheit in das Si-Rhodamin Grundgerüst zu einzufügen, da diese Strategie den Zugang zu niedermolekularen Si-Rhodaminen (<500 g/mol) mit der Möglichkeit einer Verknüpfung an wichtigen Tumorvektoren bietet und somit zur Beantwortung wichtiger onkologischer Fragestellungen führt. Bisher sind keine radiofluorierten bzw. radiomarkierten Si-Rhodamine bekannt. Durch die direkte Verknüpfung der Radioaktivität an das niedermolekulare Si-Rhodamin **86** bleibt der radioaktive Farbstoff noch immer ein niedermolekularer Radiotracer. In diesem Fall genießt der fluoreszente Radiotracer die Vorteile von niedermolekularen Verbindungen wie beispielsweise eine konstante Pharmakokinetik, welche nach Knüpfung an hochmolekulare Biomolekülen (z.B. Antikörper oder Peptiden) marginal beeinflusst werden kann.^[101]



In Schema 17c ist eine Modellverbindung des Si-Rhodamins **86** für den radioaktiven SiFA-Isotopenaustausch gezeigt. Die Modellverbindung **86** besitzt als sterisch anspruchsvolle

Gruppe eine *tert*-Butylgruppe am Silan, welche eine mögliche Hydrolyse und Defluorierung in wässrigem Medium vermeiden soll. Zudem verspricht das Rückgrat der Xanthen-Einheit ebenfalls eine Abschirmung vor Nucleophilen wie Hydroxidionen, welche eine mögliche Hydrolyse herbeiführen können.

Nach Optimierung der Bedingungen zur SiFA-Radiomarkierung des Si-Rhodamins **86** sollen schließlich Stabilitätsuntersuchungen zeigen, wie die radiomarkierten Farbstoffe sich *in vitro/in vivo* verhalten. Anschließend soll ein wasserlösliches Si-Rhodamin [¹⁸F]**87** entwickelt werden, welches an medizinisch relevante Targetmoleküle (z.B. PSMA-Bindungsmotiv) geknüpft werden kann. Danach kann eine etwaige selektive Anreicherung des Radiotracers an Tumoren untersucht werden (Schema 17d).

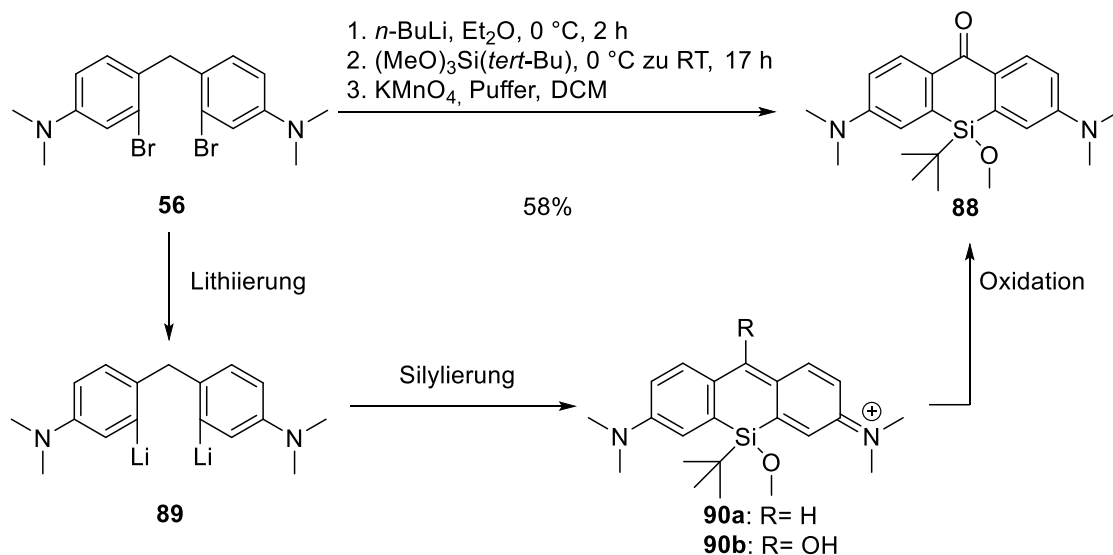
Zur Herstellung des Si-Rhodamins **86** wurden die Arbeiten von Kramer und Bertozzi *et al.* genutzt, um zunächst das entsprechende Si-Xanthon **88** zu synthetisieren (Schema 18).^[197, 201]

Zum Silan-Baustein des Si-Xanthon **88** wurde eine Methoxygruppe gewählt, da bereits Arbeiten zur Fluorierung von Alkoxysilanen veröffentlicht wurden und die Strategie der Fluorierung von Alkoxysilanen auf das Si-Rhodamin **91** transferiert werden kann.^[269-272] Analog zur Synthese des Si-Xanthon **48** wurde ausgehend von 3-Bromo-*N,N*-dimethylanilin (**56**) eine zweistufige Eintopfreaktion gemäß Schema 18a zum Si-Xanthon **88** durchgeführt. Das Dibromid **56** wurde in einem zweifachen Halogen-Metall-Austausch bei 0 °C zu **89** lithiiert und danach bei 0 °C mit dem *tert*-Butyltrimethoxysilan-Baustein über 17 Stunden umgesetzt (Schema 18a).^[195-197, 200] Anschließend wurden als Zwischenprodukte die Xanthen-Derivate **90a** und **90b** erhalten. Diese wurden in einer Folgereaktion mit dem Oxidationsmittel Kaliumpermanganat in Gegenwart eines Puffers (Tetrabutylammoniumhydrogensulfat (0.4 Äq.) in Kalilauge (1 M)) zum Si-Xanthon **88** oxidiert (Schema 18a). Nach säulenchromatographischer Reinigung (*n*-Hexan/Ethylacetat 95:5 zu 60:40 auf Kieselgel) wurde das Si-Xanthon **88** mit einer Ausbeute von 58% erhalten. Die ¹H/¹³C-NMR-Spektren, der Vergleich mit arbeitskreisinternen Daten und HR-ESI-MS-Daten mit einem *m/z*=787.4042 für das Molekülion [2M+Na]⁺ (berechnet: *m/z*=787.4045) bestätigen die erfolgreiche Synthese des Si-Xanthon **88**.^[195-197]

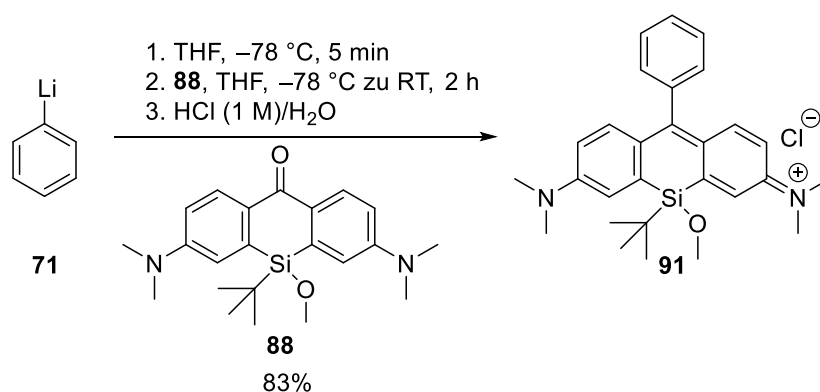
Das Si-Xanthon **88** wurde anschließend mit 1.2 Äquivalenten des kommerziell erhältlichen Phenyllithiums in THF bei -78 °C umgesetzt (Schema 18b). Nach saurer Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (DCM/MeOH 99:1 zu 90:10 auf Kieselgel) wurde das tiefblaue Si-Rhodamin **91** mit einer guten chemischen Ausbeute von 83% analysenrein erhalten. Die ¹H/¹³C-NMR-Daten und Daten der HR-ESI-MS (positiver Modus) weisen auf eine erfolgreiche Synthese hin. Außerdem zeigt der Vergleich mit hausinternen Daten ebenfalls die Präsenz von **91**.^[196-197] Wichtig ist zu erwähnen, dass die Methoxygruppe des Si-Rhodamin **91** nach einer HPLC-Aufreinigung aufgrund des Einsatzes von deionisiertem Wasser und

Acetonitril mit 0.1% Trifluoressigsäure als Additiv hydrolysiert wird. Dies wurde durch entsprechende NMR- und HR-ESI-MS Experimente nachgewiesen.

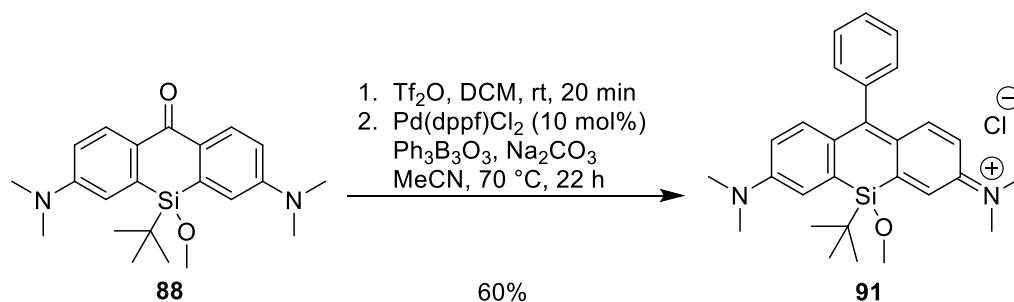
a) Synthese des Xanthons **88**



b) Synthese des Si-Rhodamins **91** über nukleophile Addition und Eliminierung



c) Synthese des Si-Rhodamins **91** über Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplung



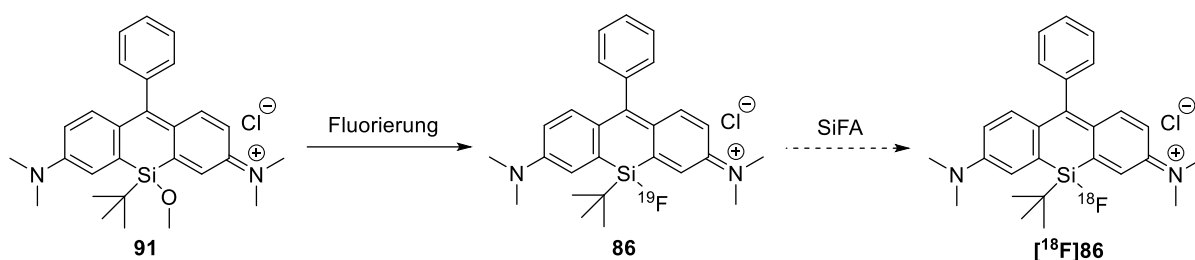
Schema 18: a) Synthese des Si-Xanthons **88**, ausgehend von **56**, nach Kramer und Bertozzi *et al.*^[197, 201] b) Synthese des Si-Rhodamins **91** in einer nukleophilen Additions- und Eliminierungsreaktion und durch eine Palladium-katalysierte Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplungsreaktion (c).

Alternativ wurde das Si-Rhodamin **91** mithilfe der Bedingungen der Palladium-katalysierten Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplungsreaktion aus dem vorangegangenen Kapitel (**3.1**)

3. Ergebnisse und Diskussion

synthetisiert. Demnach wurden die optimierten Bedingungen aus Kapitel 3.1 verwendet und zunächst das Si-Xanthon **88** in trockenem DCM mithilfe von 1.1 Äquivalenten TiF_4 zum entsprechenden dunkelblauen Triflat umgesetzt. Im nächsten Schritt wurde das Triflat mit dem bidentaten Palladium-Katalysator $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ (10 mol%), dem entsprechenden Boroxin **52b** (1.1 Äquivalente) und Natriumcarbonat (3 Äquivalente) zum Si-Rhodamin **91** umgesetzt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (DCM/MeOH 99:1 zu 90:10 auf Kieselgel) konnte das Si-Rhodamin **91** mit einer chemischen Ausbeute von 60% analysenrein erhalten werden. Die alternative Syntheseroute zur Herstellung des Si-Rhodamins **91** zeigt, dass die optimierten Bedingungen aus Kapitel 3.1 erfolgreich auf andere Si-Rhodamin-Gerüste übertragen werden können.

Im Folgenden wurden unterschiedliche Methoden zur Fluorierung und diverse Fluorierungsreagenzien genutzt, um das bereits hergestellte Si-Rhodamin **91** zu fluorieren. Das fluorierte Si-Rhodamin **86** soll dann als Vorläufer für den SiFA-Isotopenaustausch mit radioaktivem Fluor-18 dienen (Schema 19, Tabelle 12).



Schema 19: Überblick über die Fluorierung von **91** und die darauffolgende SiFA-Radiofluorierung von **86**.

Eine konventionelle Methode zur Fluorierung von Alkoxyether-funktionalisierten Organosilanen ist die Nutzung des nukleophilen Fluorids aus dem Kaliumfluorid.

Um die Nukleophilie von Fluoridionen zu steigern, wird der [2.2.2]Kryptand, welcher kommerziell unter dem Namen Kryptofix[®] erhältlich ist, genutzt.

Der Kryptand komplexiert das Kalium, sodass die Nukleophilie des nun nackten Fluorid-Ions gesteigert und die Reaktion in Gang gesetzt werden kann. Jedoch wurde festgestellt, dass nach 16 Stunden in Essigsäure als Lösungsmittel bei Raumtemperatur keine Umsetzung erfolgte (Tabelle 12, Eintrag: 1).^[197]

Der Einsatz von Fluorwasserstoffsäure (HF (aq); w_T:35% in Wasser) für die Fluorierung von sterisch anspruchsvollen Alkoxysilanen wurde bereits hausintern in sogenannten Pyronin-Farbstoffen erfolgreich getestet und wurde aus diesem Grund ebenfalls für das Si-Rhodamin **91** genutzt.^[197] Es wurde festgestellt, dass sowohl in Acetonitril als auch in THF ein vollständiger Umsatz erreicht wurde, jedoch sind laut der Dünnschichtchromatographie unterschiedliche Nebenprodukte entstanden, welche in der ESI-MS keine Anwesenheit vom

fluorierten **86** zeigten. Als alternatives nukleophiles Fluorierungsmittel zeigte das HF*py (Olah's Reagenz) in THF bei Raumtemperatur ebenfalls unterschiedliche Nebenprodukte, die nicht näher charakterisiert wurden (Eintrag: 3).^[197]

Tabelle 12: Die untersuchten Methoden mit den verwendeten Fluorierungsmitteln und die dazugehörigen Bedingungen zur Fluorierung des Si-Rhodamins **91**.

Eintrag	Fluorierungsmittel	Bedingungen	Resultat
1	KF	[2.2.2]Kryptand/K ₂ CO ₃ in AcOH, RT, 16 h	keine Umsetzung ^a
2	HF	in MeCN/THF, RT, 3–18 h	unterschiedliche Nebenprodukte ^a
3	Olah's Reagenz (70% HF in 30% pyridine)	in THF, RT, 16 h	unterschiedliche Nebenprodukte ^a
4	TBAF	in THF, RT, 3 h	Entstehung des Silanol 92
5	DAST	in MeCN/THF, RT, 16 h	unterschiedliche Nebenprodukte
6a	Selectfluor [®]	in MeCN, RT, 17 h	Großteils keine Umsetzung und Entstehung des Silanols 92 in Spuren
6b	Selectfluor [®]	in DMF, RT, 17 h	Großteils keine Umsetzung und Entstehung des Silanols 92 in Spuren
7	(NH ₄) ₂ SiF ₆	in THF, RT, 20 h	keine Umsetzung
8	H ₂ SiF ₆	in MeCN, RT, 3 h	nachgewiesen durch HR-ESI-MS und ¹⁹ F-NMR des Rohprodukts, aber Hydrolyse zu Silanol 92 nach Aufreinigung

^aDiese Bedingungen wurden von C. S. Kramer durchgeführt und im Rahmen dieser Dissertation erneut reproduziert.^[197]

Unter ähnlichen Bedingungen zeigte die Verwendung von Tetrabutylammoniumfluorid (TBAF) nach wässrig-saurer Aufarbeitung ausschließlich die Bildung des Silanols **92** (Eintrag: 4).

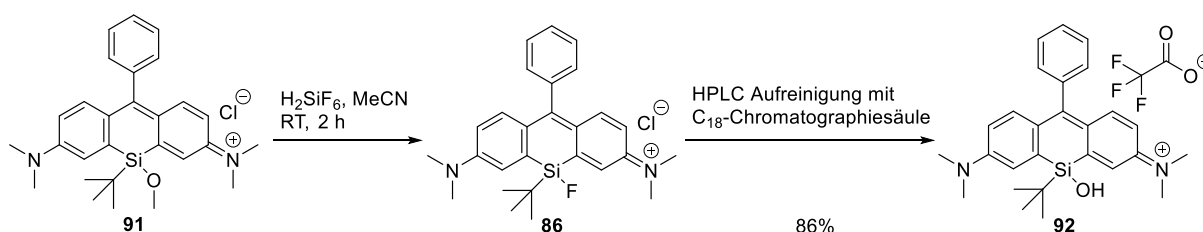
Das nukleophile Fluorierungsmittel Diethylaminoschwefeltrifluorid (DAST) zeigte ebenfalls unterschiedliche Nebenprodukte, die anhand der ESI-MS nicht dem fluorierten Si-Rhodamin **86** zugeordnet werden konnten (Eintrag: 5).

Als Alternative zu nukleophilen Fluorierungsmitteln wurde das elektrophile Fluorierungsmittel Selectfluor[®] verwendet. Unter den Bedingungen nach Danahy *et al.* wurde die Fluorierung sowohl in DMF als auch in Acetonitril durchgeführt.^[273] Auch dieses Fluorierungsmittel führte laut ESI-MS der Reaktionslösung zu keinem Erfolg und es wurde eine Mischung aus der Ausgangssubstanz und hydrolysiertem Silanol **92** (Eintrag: 6a/6b) erhalten.

3. Ergebnisse und Diskussion

Des Weiteren wurden für die Fluorierung von Si-Rhodamin **91** Fluorosilikate genutzt. Während mithilfe des Ammoniumhexafluorosilikats ($(\text{NH}_4)_2\text{SiF}_6$) in THF keine Umsetzung festgestellt werden konnte (Eintrag: 7), wurde ein vollständiger Umsatz von **86** zum fluorierten Si-Rhodamin **86** durch das Reagenz Hexafluorkieselsäure (H_2SiF_6 ; w_T :20–25% in Wasser) in Acetonitril bei Raumtemperatur mithilfe des ESI-MS festgestellt (Eintrag: 8). Überraschenderweise konnte, unter analogen Bedingungen, keine Umsetzung von **91** in THF erreicht werden. Außerdem wurde **86** mithilfe von HR-ESI-MS-Experimenten (positiver Modus) nachgewiesen (berechnet: $m/z=431.2113$; gefunden: $m/z=431.2115$).

Es wurde festgestellt, dass eine wässrige Aufarbeitung des Rohprodukts von **86** zur Hydrolyse und somit zur Bildung des Silanols **92** führt. Somit zeigt sich, dass das fluorierte Si-Rhodamin **86** instabil gegenüber Nucleophilen ist und zur Hydrolyse neigt. Aus diesem Grund wurde versucht das Rohprodukt **86** unmittelbar nach Synthese ohne eine etwaige Aufarbeitung säulenchromatographisch (DMC/MeOH 99:1 zu 90:10 auf Kieselgel) aufzureinigen. Jedoch wurde nach säulenchromatographischer Reinigung erneut die Entstehung des Silanols **92** festgestellt.



Schema 20: Die Fluorierung von **91** mit Hexafluorkieselsäure in Acetonitril bei Raumtemperatur. Nach anschließender Reinigung des fluorierten Si-Rhodamins **86** wurde das entsprechende Silanol **92** mit einer chemischen Ausbeute von 86% erhalten.

Hierbei ist ein möglicher Austausch des Fluorids, welches am Silizium gebunden ist, mit der stationären Phase des Siliziumoxids naheliegend. Aus diesem Grund wurde versucht, das Rohprodukt über neutralem Aluminiumoxid (ALOX) als stationäre Phase (DCM/MeOH 99:1 zu 91:9) aufzureinigen. Auch diese Alternative ergab lediglich das hydrolysierte Silanol **86**. Diese Beobachtungen zeigen, möglicherweise aufgrund der hohen Oxophilie des Siliziums, eine Instabilität der Silizium-Fluorid-Bindung.

Die Reinigung des Rohprodukts mittels HPLC und einer geeigneten Methode (10–90% MeCN/ H_2O , linearer Gradient in 35 Minuten, mit 0.1% v/v TFA als Additiv, *System 2*) führte zu einer Ausbeute von 86% des analysenreinen Silanols **92** als Hauptprodukt (Schema 20). Die $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren und die exakte Masse des Molekülions (berechnet: $[\text{M}]^+=429.2357$; gefunden: $[\text{M}]^+=429.2361$) bestätigen die Präsenz des hydrolysierten Si-Rhodamins **92**.

3. Ergebnisse und Diskussion

Diese Hinweise deuten darauf hin, dass die fluorierte Verbindung **86** wohl in Gegenwart eines Überschusses an Wasser leicht zum Silanol **92** hydrolysiert wird und im wässrigen Milieu nicht beständig ist.

Aufgrund der Hydrolyseeigenschaften von **86** wurden ^{19}F -NMR-Experimente im 376 MHz NMR-Gerät durchgeführt, um die Bildung des fluorierten Si-Rhodamins zu untersuchen, die genauen Hydrolysebedingungen zu dokumentieren und um somit die Beständigkeit der Silizium-Fluorid Bindung in wässrigen Lösungen zu untersuchen (Abbildung 12).

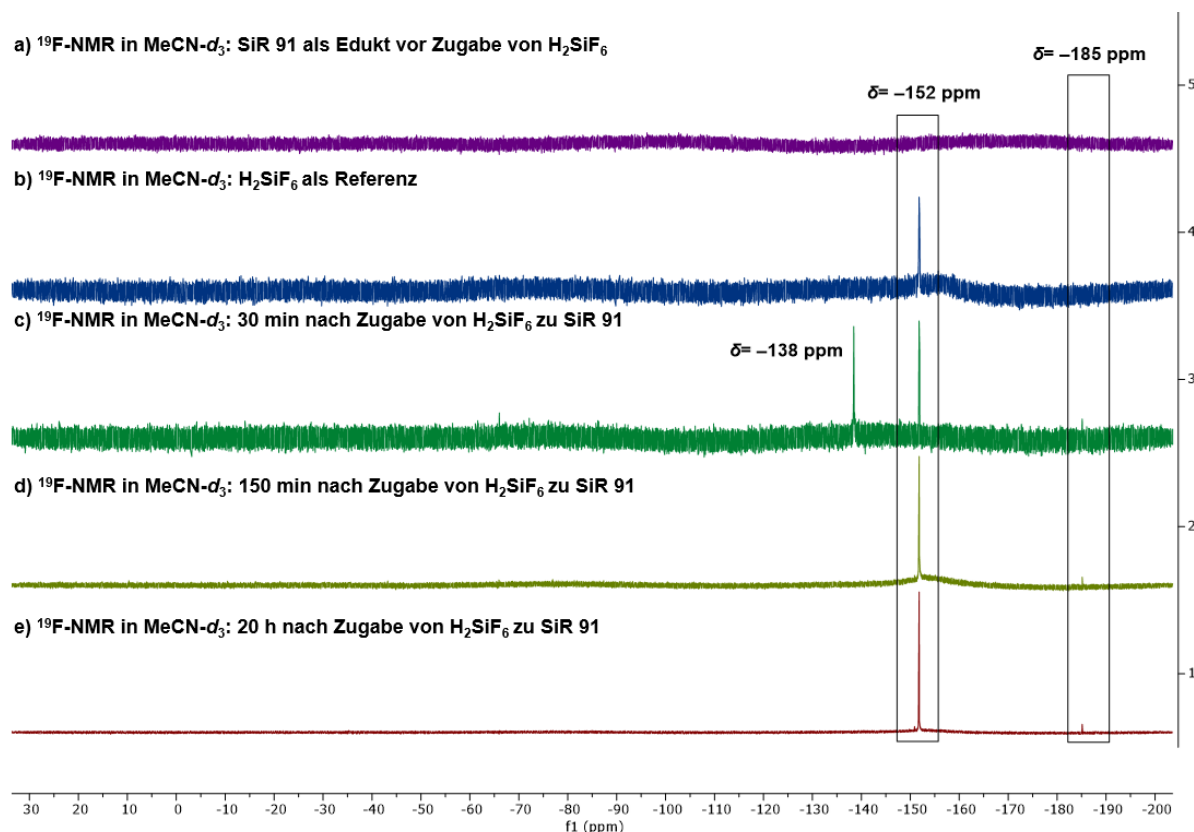


Abbildung 12: ^{19}F -NMR-Spektren vom Si-Rhodamin **91** nach Zugabe von Hexafluorkieselsäure in deuteriertem Acetonitril (376 MHz NMR). Die Reaktion wurde in einem NMR-Röhrchen durchgeführt. a) ^{19}F -NMR-Spektrum von **91** in deuteriertem Acetonitril und b) das dazugehörige ^{19}F -NMR-Spektrum der Hexafluorkieselsäure in deuteriertem Acetonitril. c), d) und e) zeigen ^{19}F -NMR-Spektren vor entstehender **86** nach Zugabe der Hexafluorkieselsäure zu **91** nach verschiedenen Zeitpunkten [ppm].

Demnach wurde das Edukt **91** in ein NMR-Röhrchen gegeben und die kommerziell erhältliche wässrige Hexafluorkieselsäure (w_T : 20–25% in Wasser; ein Äquivalent) hinzugegeben. Die NMR-Experimente wurden in dreifach deuteriertem Acetonitril durchgeführt. Nach Zugabe der Hexafluorkieselsäure wurde nach verschiedenen Zeitabständen ein ^{19}F -NMR aufgenommen und die Reaktion währenddessen analysiert. Wie zu erwarten ist, zeigt **91** allein kein ^{19}F -NMR-Signal, da es keine Fluoratome trägt (Abbildung 12a). Die chemische Verschiebung des

Hexafluorosilikat-Anions SF_6^- in der Hexafluorkieselsäure beträgt $\delta = -152$ ppm (Abbildung 12b). Nach Zugabe der Hexafluorkieselsäure zum Si-Rhodamin **91** konnte nach 30 Minuten ein Signal bei $\delta = -138$ ppm erhalten werden, welches möglicherweise auf anionisches Pentafluorosilikat SiF_5^- hindeutet, da das Pentafluorosilikat laut Literatur in deuteriertem Acetonitril eine ähnliche chemische Verschiebung aufweist.^[274-275] Zusätzlich kann ein ^{19}F -NMR-Signal bei etwa $\delta = -185$ ppm in Abbildung 12c beobachtet werden, welches laut Literatur im typischen Bereich von fluorierten und sterisch gehinderten Silanen liegt (zwischen $\delta = -185$ – 195 ppm).^[265, 276-279] Zudem zeigen die bereits genannten und hausintern charakterisierten Si-Pyronine chemische Verschiebungen bei etwa $\delta = -187$ ppm.^[197]

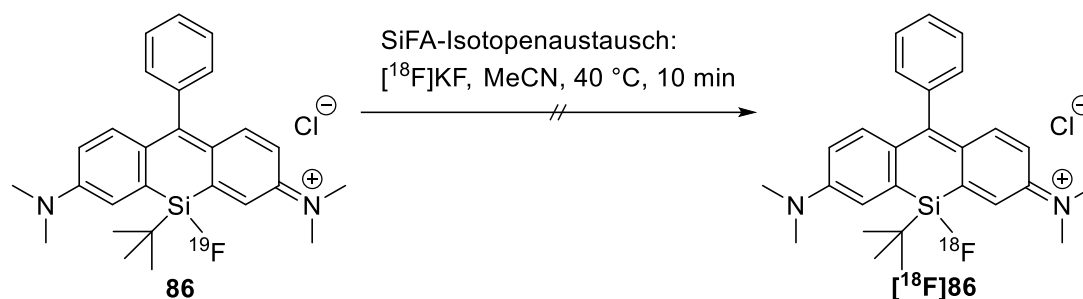
Überraschenderweise verschwindet nach 150 Minuten das ^{19}F -NMR-Signal bei $\delta = -138$ ppm und die Signalintensität bei $\delta = -185$ ppm erhöht sich (Abbildung 12d). Nach 150 Minuten der Zugabe der Hexafluorkieselsäure gibt es wohl keine weitere Umsetzung, da keine Unterschiede zwischen den Signalintensitäten in den ^{19}F -NMR-Spektren bei 15 Stunden (Abbildung 12e) und bei 150 Minuten zu erkennen ist. Zusätzlich wurde ein ^{29}Si -NMR-Spektrum aufgenommen, um eine etwaige Silizium-Fluor Kopplung zu bestimmen. Jedoch konnten aus dem ^{29}Si -NMR-Spektrum keine nähere Informationen über eine Silizium-Fluorid-Bindung festgestellt werden. Zusammenfassend zeigen diese Experimente, dass die Silizium-Fluorid-Bindung im Si-Rhodamin **86** nicht stabil genug ist, um im wässrigen Medium längerfristig beständig zu sein. Jedoch ist dies eine wichtige Voraussetzung, um einen solchen Radiotracer für klinische Applikationen weiter zu entwickeln. Somit macht die Hydrolyseempfindlichkeit und die daraus resultierende limitierte Stabilität des Si-Rhodamins **86** im wässrigen Medium die Weiterentwicklung als Tracer für die bimodale PET/OI-Bildgebung nicht möglich.

Trotz der Instabilität und der Schwierigkeiten in der Reinigung des fluorierten Si-Rhodamins wurde **86** ohne weitere Reinigung in einem initialen Testansatz verwendet, um den SiFA- ^{19}F - ^{18}F -Isotopenaustausch des Si-Rhodamins **86** zu untersuchen (Schema 21). Demnach wurde das nach azeotroper Trocknung erhaltene nukleophile radioaktive Fluorid-18, in Acetonitril gelöst, zum Vorläufer **86** gegeben und ein möglicher Umsatz mittels Radio-HPLC untersucht. Hierbei wurde die Versuchsvorschrift nach Schirrmacher und Kostikov *et al.* durchgeführt.^[265, 277]

Unter diesen Bedingungen konnte kein radiochemischer Umsatz festgestellt werden. Dies ist wohlmöglich auf die geringe chemische Reinheit des ungereinigten Vorläufers **86** und auf die Hydrolyseempfindlichkeit des Silans von **86** zurückzuführen.

Um der Hydrolyse entgegenzuwirken, müsste eine im Vergleich zur *tert*-Butylgruppe voluminösere und sterisch anspruchsvollere Gruppe wie beispielsweise ein Adamantylrest am entsprechenden Silan eingeführt werden, was zu einer erhöhten Lipophilie führen und sich somit wiederum nachteilig auf die potentielle PET/OI-Anwendung auswirken würde. Außerdem müssten zunächst die entsprechenden Adamantylsilane synthetisiert werden, da

diese nur begrenzt kommerziell erhältlich. Jedoch kann sich die Synthese solcher Silan-Bausteine als äußerst komplex erweisen.



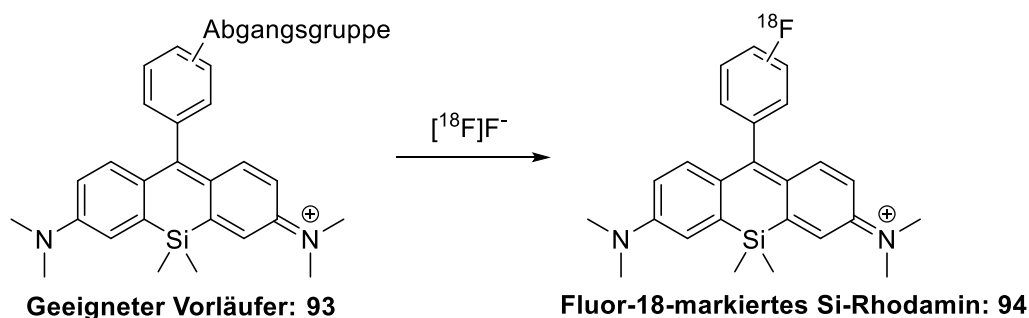
Schema 21: Fehlgeschlagener Versuchsansatz zum SiFA-Isotopenaustausch von **86**, welcher als Rohprodukt zur Radiomarkierung in Acetonitril bei Raumtemperatur mit azeotrop getrocknetem Fluor-18 verwendet wurde.

Im weiteren Verlauf dieser Arbeit wurde die Anwendung der SiFA-Isotopenaustauschreaktion auf die Si-Rhodamine nicht mehr berücksichtigt. Dagegen wurden nunmehr Radiofluorierungskonzepte zur direkten Einbringung von Fluor-18 in den Phenylring verfolgt.

3.4 Die Synthese von radiohalogenierten Si-Rhodaminen

3.4.1 Die Kupfer-vermittelte Radiofluorierung von Si-Rhodaminen

Aus dem vorangegangenen Kapitel wird ersichtlich, dass ein Fluor-19/Fluor-18-Isotopenaustausch am sterisch gehinderten Silizium-Atom in Si-Rhodaminen nicht durchgeführt werden konnte. Aus diesem Grund lag der Fokus in diesem Teil der Arbeit auf der direkten Einführung von Fluor-18 in das aromatische Grundgerüst (Schema 22).³



Schema 22: Ziel dieses Teilprojekts ist die Synthese von radiofluorierten Si-Rhodaminen, ausgehend eines geeigneten Vorläufers **93** und der direkten Fluor-18-Markierung des Phenylrings am Si-Rhodamin-Grundgerüst.

³ Teile dieses Kapitels wurden bereits veröffentlicht: „Radiolabeled Silicon-Rhodamines as Bimodal PET/SPECT-NIR Imaging Agents“, T. Kanagasundaram, M. Laube, J. Wodtke, C. S. Kramer, S. Stadlbauer, J. Pietzsch, K. Kopka, *Pharmaceuticals* **2021**, *14*, 1155.

Die Bildung von aromatischen C_{Aryl}-Fluor-Bindungen ist strategisch vorteilhaft, da die chemische Bindung zwischen dem Kohlenstoff und dem Fluor als stabil gilt.^[280] So beträgt beispielsweise die Dissoziationsenergie der C_{Aryl}-Fluor-Bindung im Fluorbenzol 526 kJ/mol und ist somit vergleichbar mit einer starken Silizium-Fluorid-Bindung (Bindungsenergie: 576±17 kJ/mol).^[268] Die starke C_{Aryl}-Fluor-Bindung verspricht hohe Stabilitäten *in vitro* oder *in vivo* und kann zu einer Reduktion von erhöhten Hintergrundsignalen in der PET-Bildgebung führen, da eine mögliche Freisetzung von Fluor-18 aus dem aromatischen Grundgerüst erschwert wird.

Bisher sind nur wenige radiofluorierte und niedermolekulare Fluoreszenzfarbstoffe aus der Literatur bekannt.^[15, 281] Eine Auswahl an Fluor-18-markierten Farbstoffen wurde bereits in Abbildung 5 gezeigt. Demnach besitzen die literaturbekannten und radiomarkierten Farbstoffe [¹⁸F]F-Rhodamin B **33** ($A_m=2.5$ GBq/μmol) und [¹⁸F]F-BODIPY **34** ($A_m=51.8$ GBq/μmol) entweder eine geringe molare Aktivität und/oder ungünstige optische Eigenschaften im sichtbaren Bereich des elektromagnetischen Spektrums.^[15, 281] Außerdem wird vor allem in radiofluorierten BODIPY-Farbstoffen oftmals von einer Defluorierung *in vivo* berichtet.^[282-284] Diese wesentlichen Nachteile können durch Verwendung der NIR-Farbstoffe der Si-Rhodamin-Farbstoffklasse und der Einführung einer stabilen aromatischen Kohlenstoff-Fluor-Bindung verbessert werden. Die Versuche zur Radiofluorierung an einfachen Si-Rhodaminen als Modellverbindungen dienen dazu, dass die erhaltenen optimierten Bedingungen in darauffolgenden Schritten auf biokonjugierbare Si-Rhodamine angewendet werden können. Somit sollen die erfolgreich radiofluorierten und biokonjugierbaren Si-Rhodamine mit diversen Targetvektoren (u.a. PSMA-Bindungsmotiv oder Indomethacin) versehen werden, um eine selektive Anreicherung in unterschiedlichem Tumorgewebe zu erreichen. Da bisher keine Informationen zu den radiofluorierten Si-Rhodaminen vorliegen, müssen neben der ausführlichen Bestimmung der optischen und radiochemischen Eigenschaften (z.B. UV-Vis-NIR-Spektren, Quantenausbeuten, Photostabilitäten und molare Aktivität) auch Hinweise auf eine mögliche Defluorierung der radiofluorierten Si-Rhodamine in wässriger Lösung aber auch in (humanem) Serum getestet werden, um generelle Aussagen über eine mögliche Instabilität und somit der Freisetzung von radioaktivem Fluorid aus dem Si-Rhodamin-Grundgerüst zu treffen.

Zur Radiofluorierung von aromatischen Verbindungen sind unterschiedliche Methoden aus der Literatur bekannt.^[6] Da Si-Rhodamine aufgrund der elektronenschiebenden Silan-(+I-Effekt) und Aminogruppen (+M-Effekt) eine hohe Elektronendichte am Aromaten-Grundgerüst besitzen, sollte zur Radiofluorierung vorzugsweise eine elektrophile aromatische Fluorierungsmethode gewählt werden. Die elektrophile aromatische Fluorierung ist beispielsweise durch Umsetzung mit molekularem Fluor (F₂) möglich. Jedoch ergeben Arbeiten mit molekularem [¹⁸F]F₂-Gas theoretische radiochemische Ausbeuten von maximal

50% verbunden mit geringen molaren Aktivitäten und stellen zusätzlich erhöhte strahlenschutztechnische Anforderungen an den experimentellen Aufbau, da mit einem radioaktivem Gas umgegangen werden muss.^[285-286] Aus diesen Gründen lag der Fokus auf modernen Radiofluorierungsmethoden, welche auf nukleophilen aromatischen Radiofluorierungen beruhen und unter klassischer nukleophiler aromatischer Substitutionen schwer zugänglich sind. So ist eine Methode die Kupfer-vermittelte Radiofluorierung von aromatischen Borverbindungen, welche von den Gruppen um Wright, Mossine und Zischler *et al.* ausgiebig untersucht wurden.^[256, 287-289] Diese Methode erlaubt Radiofluorierungen von elektronenreichen aber auch elektronenarmen aromatischen Verbindungen.^[256] Aus diesem Grund wurde für das Si-Rhodamin als Abgangsgruppe eine auf Bor-basierende Gruppe wie ein Boronsäurepinakolester oder eine freie Boronsäure gewählt und anschließend für die Kupfer-vermittelte Radiofluorierung, gemäß Schema 22, vorbereitet.

Zunächst wurden Si-Rhodamine synthetisiert, welche eine Boronsäure am freien Phenylring tragen und somit als Vorläuferverbindungen für die Kupfer-vermittelte Radiofluorierung verwendet werden sollen. Um zu untersuchen, welche Position des Phenylrings bevorzugt bei der Kupfer-vermittelten Radiomarkierung mit Fluor-18 markiert wird, wurden die Boronsäuren an der *ortho*-, *meta*- und *para*-Position des Phenylrings, relativ zum Xanthen-Grundgerüst des Si-Rhodamins, platziert. Außerdem sollte untersucht werden, inwiefern die unterschiedlichen Positionen die optischen Eigenschaften (Absorptions- und Emissionsmaximum, molarer Extinktionskoeffizient und die Quantenausbeute) beeinflussen.

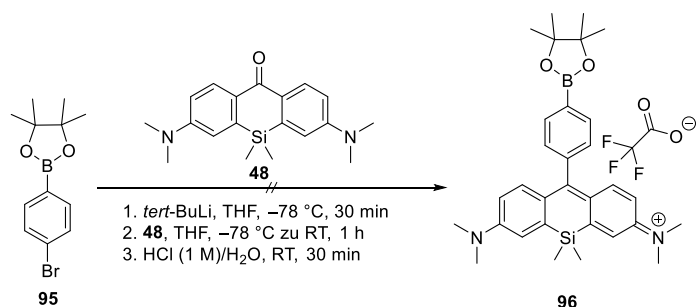
In Schema 23 sind die Darstellungsmöglichkeiten der auf Bor basierenden Si-Rhodamine, gezeigt, welche als Radiomarkierungsvorläufer für die Kupfer-vermittelte Radiofluorierung gelten.

Zur Kupfer-vermittelten Radiomarkierung von Bor-basierten Vorläufern werden auch Phenylboronsäurepinakolester genutzt.^[256, 288-289] Aus diesem Grund wurde zunächst versucht, ausgehend vom kommerziell erhältlichen 4-Bromophenyl-Boronsäurepinakolester, ein entsprechendes Pinakolester-funktionalisiertes Si-Rhodamin **96**, darzustellen. Hierbei wurde, mit den bereits bekannten Bedingungen des Lithium-Halogen-Austausches, mit zwei Äquivalenten *tert*-Butyllithium in THF bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ ein Lithiierungsansatz getestet. Nach Lithiierung bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ wurde zur resultierenden schwarzen Lösung das Si-Xanthon **48** hinzugegeben. Nach wässrig-saurer Aufarbeitung wurde festgestellt, dass kein Umsatz des Si-Xanthon **48** mit der vermeintlich lithiierten Borverbindung stattgefunden hat, da das Si-Xanthon **48** laut Dünnschichtchromatographie auf Kieselgelplatten (DCM/MeOH 9:1) unverändert vorlag. Dieses Ergebnis ist vermutlich auf die Reaktionsträgheit des trigonal-planaren Bors am Pinakolester zurückzuführen. Die Neigung des Bors, als Lewis-Säure in Gegenwart von Organolithium-Verbindungen zu wirken, führt möglicherweise zu unerwünschten Nebenreaktionen, die die Lithium-Brom-Austauschreaktion verhindern.^[290-291]

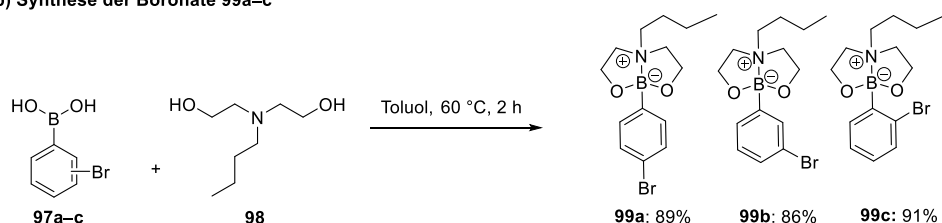
3. Ergebnisse und Diskussion

Folglich wird die nukleophile Addition an das Si-Xanthon **48** erschwert. Um die Lewis-Acidität des Bors an den Phenylboronsäuren **97a–97c** zu erniedrigen, wurde das Bor mit einer Schutzgruppe versehen, welche der harschen Bedingungen während des Halogenid-Metall-Austausches standhalten sollte.

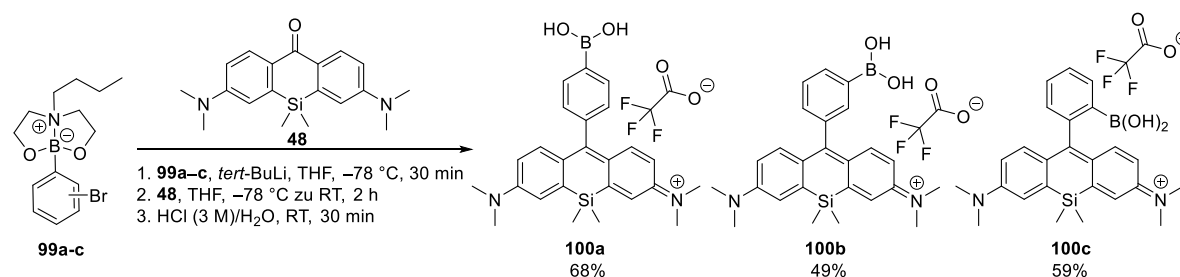
a) Fehlgeschlagene Synthese eines Boronsäure Pinakolester-funktionalisierten SiRs **96**



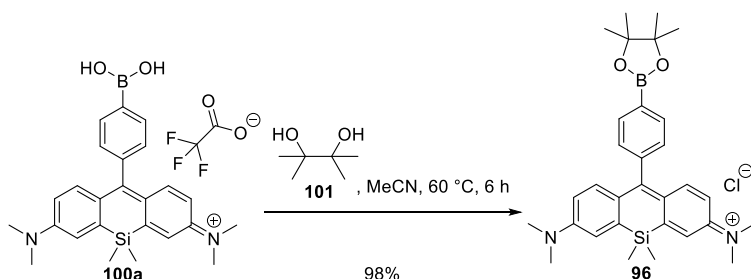
b) Synthese der Boronate **99a–c**



c) Synthese der Boronsäure-funktionalisierten Vorläuferverbindungen **100a–c**



d) Alternative Synthese der Boronsäurepinakolester-funktionalisierten Vorläuferverbindung **96**



Schema 23: Überblick über die Methoden zur Synthese von auf Bor basierenden Si-Rhodaminen.

a) Versuch zur Synthese eines Pinakolester-funktionalisierten Si-Rhodamins **96**. b) Synthese von geschützten Boronaten **99a–99c**. c) Synthese der Si-Rhodamine **100a–100c** aus nukleophilen Additions- und Eliminierungsreaktionen, ausgehend von geschützten Boronaten und dem Si-Xanthon **48**. d) Alternative Synthese eines Pinakolester-funktionalisierten Si-Rhodamins **96**.

Die freien Boronsäuren der Aromaten wurden zunächst mit dem tridentaten Liganden *N*-Butyldiethanolamin (**98**) versehen, um die entstehenden tetraedrischen Boronate **99a–99c** in der Lithium-Bromid-Austauschreaktion zu schützen aber auch eine hohe Effizienz im Lithium-Halogen-Austausch zu gewährleisten. Dabei fand die Chelatisierung des Bors nach einer Vorschrift von Durka *et al.* in Toluol unter Erwärmung bei 60 °C für zwei Stunden statt (Schema 23b).^[292] Nach Entfernung des Toluols wurde der entstandene farblose Niederschlag mit *n*-Hexan und Diethylether gewaschen und über Nacht im Hochvakuum getrocknet. Schließlich wurden die Arylboronate **99a–99c** mit sehr guten Ausbeuten von 89% (**99a**), 86% (**99b**) und 91% (**99c**) synthetisiert. Die erfolgreiche Synthese wurde mit ¹H-, ¹¹B-, ¹³C-NMR-Spektroskopie und HR-ESI-MS bestätigt.

Im nächsten Schritt wurden die halogenierten Arylboronate **99a–99c** bei –78 °C mit *tert*-Butyllithium (zwei Äquivalente) *in situ* lithiiert. Danach erfolgte ebenfalls bei –78 °C die nukleophile Additionsreaktion an den Carbonylkohlenstoffatom des Si-Xanthons **48**. Nach anschließender Zugabe einer wässrigen Lösung von Salzsäure (3 M) wurden die Boronat-Schutzgruppen abgespalten und die Boronsäure-funktionalisierten Si-Rhodamine **100a–100c** erhalten. Da die Si-Rhodamine **100a–100c** nach einer säulenchromatographischen Reinigung (DCM/MeOH 99:1 zu 88:12 auf Kieselgel, mit 0.2% v/v AcOH als Additiv) nicht analysenrein vorlagen, wurden die nach der säulenchromatographischen Reinigung erhaltenen Produkte einer weiteren Aufreinigung mittels semi-präparativer HPLC unterzogen (10–90% MeCN/H₂O, linearer Gradient in 35 Minuten, mit 0.1% v/v TFA als Additiv, *System 2*). Durch Nutzung von TFA im Eluent konnte auch gewährleistet werden, dass final Trifluoracetat als negativ geladenes Gegenion der kationischen Si-Rhodamine vorliegt. Dies konnte anhand von ¹⁹F-NMR-Messungen der HPLC aufgereinigten Si-Rhodamine bestätigt werden. Nach HPLC-Aufreinigung wurden die unterschiedlichen Regioisomere der Boronsäure-funktionalisierten Si-Rhodamine **100a–100c** mit moderaten Ausbeuten zwischen 49% und 68% erhalten. Der Grund für die durchschnittlichen Ausbeuten ist vor allem die Nutzung der zwei aufeinanderfolgenden Aufreinigungsschritte, da nach beiden Methoden (Säulenchromatographie und HPLC) ein Produktverlust festzustellen war.

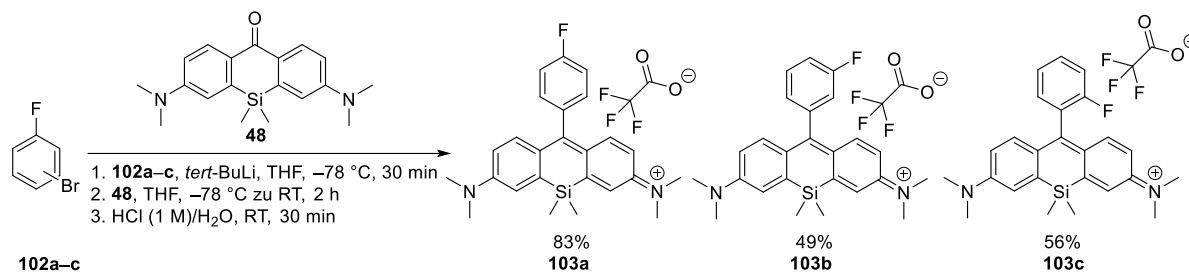
Die nach der HPLC aufgereinigten analysenreinen Si-Rhodamine wurden mittels ¹H-, ¹¹B-, ¹³C- und ¹⁹F-NMR charakterisiert. Dabei zeigte das ¹⁹F-NMR-Spektrum für alle drei Regioisomere die Anwesenheit des Trifluoracetats als Gegenion mit einer charakteristischen chemischen Verschiebung bei $\delta = -77.4$ ppm (CF₃COO⁻). Das ¹¹B-NMR-Spektrum zeigt ebenfalls das charakteristische Signal des Bors der Phenylboronsäuren mit chemischen Verschiebungen zwischen 26 ppm und 28 ppm.^[292-296] Zudem sprechen die HR-ESI-MS Spektren der kationischen Regioisomere mit einem Signal des Molekülions von $m/z = 429$ (berechnet: $m/z = 429.2165$; $m/z(\mathbf{100a}) = 429.2173$, $m/z(\mathbf{100b}) = 429.2164$, $m/z(\mathbf{100c}) = 429.2175$) für die erfolgreiche Synthese.

Da die Synthesemethode zum Boronsäurepinakolester-funktionalisierten Si-Rhodamin **96** (Schema 23a) erfolglos war, wurde das Boronsäure-funktionalisierte Si-Rhodamin **100a** mit 1,1,2,2-Tetramethylethylenglykol (Pinakol, **101**) in Acetonitril für sechs Stunden bei 70 °C erwärmt, um eine zweifache Kondensation des Pinakols mit dem Si-Rhodamin **100a** zu erreichen. Diese alternative Syntheseroute führte erfolgreich zum Boronsäurepinakolester-funktionalisierten Si-Rhodamin **96**. Das erhaltene Rohprodukt wurde nach säulenchromatographischer Reinigung (DCM/MeOH 99:1 zu 92:8 auf Kieselgel) mit einer hohen Ausbeute von 98% synthetisiert. Da Boronsäurepinakolester in saurer Umgebung, aufgrund einer erhöhten Instabilität zu den entsprechenden Boronsäuren hydrolysieren bzw. einer Protodeborylierung unterliegen können, wurde der Pinakolester **96** nicht mittels HPLC, sondern lediglich säulenchromatographisch aufgereinigt.^[297-298] Im Gegensatz zur doppelten Aufreinigungsstrategie der Boronsäure-funktionalisierten Si-Rhodamine **100a–100c** konnte das Si-Rhodamin **96** nach säulenchromatographischer Reinigung mit hoher Reinheit erhalten werden. **96** wurde mit den gängigen Spektroskopiemethoden (¹H-, ¹¹B- und ¹³C-NMR), aber auch mithilfe der HR-ESI-Massenspektrometrie nachgewiesen. Da das ¹⁹F-NMR-Spektrum kein entsprechendes ¹⁹F-NMR-Signal von Trifluoroacetat-Ionen zeigte, wird von Chloriden als Gegenionen ausgegangen, welche aus der Aufarbeitung einer gesättigten Natriumchlorid-Lösung stammen.

Im nächsten Schritt wurden die entsprechenden nicht-radioaktiven Fluor-Referenzsubstanzen **103a–103c** synthetisiert. Die Darstellung von **103a–103c** erfolgte analog zu den Bedingungen der vorangegangenen Methoden durch nukleophile Additions- und Eliminierungsreaktionen der entsprechenden fluorierten Arylbromide **102a–102c** am Si-Xanthon **48** (Schema 24). So konnten die fluorierten Regioisomere **103a–103c** mit Ausbeuten von 83% (*para*-SiR **103a**), 49% (*meta*-SiR **103b**) und 56% (*ortho*-SiR **103c**) nach säulenchromatographischer Reinigung (DCM/MeOH 99:1 zu 92:8 auf Kieselgel) und anschließender HPLC-Aufreinigung (30–90% MeCN/H₂O, linearer Gradient in 35 Minuten, mit 0.1% v/v TFA als Additiv, System 2) synthetisiert werden (Schema 24). Zusätzlich zu den ¹H- und ¹³C-Spektren zeigen die ¹⁹F-NMR-Spektren die Anwesenheit der Trifluoroacetat-Anionen für **103a–103c** (ca. $\delta = -77.4$ ppm (CF₃COO⁻)) aber auch bei einer chemischen Verschiebung von ca. $\delta = -114$ ppm die Fluorsignale, welche direkt am Phenylring lokalisiert sind.

3. Ergebnisse und Diskussion

Synthese der nicht-radioaktiven Referenzverbindungen



Schema 24: Synthese der nicht-radioaktiven Si-Rhodamine **103a–103c** als Referenzsubstanzen, ausgehend von den kommerziell erhältlichen und fluorierten Arylbromiden **102a–102c**.

Nun wurden die optischen Eigenschaften der synthetisierten Si-Rhodamine **96**, **100a–100c** und **103a–103c** untersucht. Hierbei wurde ein Augenmerk auf den Einfluss der unterschiedlichen Positionen der Boronsäure-/des Boronsäurepinakolesters und der Fluoratome am Phenylring des Si-Rhodamins auf die optischen Eigenschaften gelegt.

In Tabelle 13 ist eine Zusammenstellung der optischen Charakteristika der Si-Rhodamine in DMSO und PBS (Maximalgehalt DMSO: 0.5%; $\text{pH}=7.4$) veranschaulicht. Zur Bestimmung der Quantenausbeuten Φ_F wurde als Referenzfarbstoff das Nilblau A in Ethanol ($\Phi_F=0.27$) verwendet. Die dazugehörigen UV-Vis-NIR-Spektren sind im Experimentalteil gezeigt (**6.4**).

Tabelle 13: Überblick der optischen Eigenschaften der synthetisierten Si-Rhodamine in DMSO und PBS ($\text{pH}=7.4$) oder HCl (aq, 0.1 M) bei Raumtemperatur. Die Messungen der optischen Eigenschaften in PBS erfolgte mit einer genutzten DMSO-Stammlösung und einem Maximalgehalt von 0.5% v/v an DMSO. Die Anregung der Si-Rhodamine fand bei einer Wellenlänge von $\lambda_{\text{Anregung}}=650\text{ nm}$ statt. Als Referenzfarbstoff diente Nilblau A in Ethanol ($\Phi_F=0.27$).^[299]

SiR	Lösungsmittel	λ_{abs} [nm]	ϵ_{max} [$\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$]	λ_{em} [nm]	Φ_F [^{a]}]
100a	DMSO	659	67.800	677	0.149
	PBS ($\text{pH}=7.4$) ^[b]	646	61.700	662	0.104
100b	DMSO	659	106.600	678	0.094
	PBS ($\text{pH}=7.4$) ^[b]	647	61.700	661	0.182
100c	HCl (aq, 0.1 M)	644	17.500	667	0.197
96	DMSO	660	57.900	677	0.162
	PBS ($\text{pH}=7.4$) ^[b]	643	47.600	660	0.135
103a	DMSO	663	143.900	682	0.134
	PBS ($\text{pH}=7.4$) ^[b]	649	88.700	665	0.115
103b	DMSO	666	113.400	682	0.124
	PBS ($\text{pH}=7.4$) ^[b]	650	51.100	666	0.075
103c	DMSO	671	94.900	687	0.149
	PBS ($\text{pH}=7.4$) ^[b]	655	54.200	671	0.221

Die in DMSO, PBS ($\text{pH}=7.4$) oder HCl (0.1 M) erhaltenen UV-Vis-NIR-Spektren zeigen die typischen Absorptions- und Emissionsmuster, welche charakteristisch für Si-Rhodamine sind

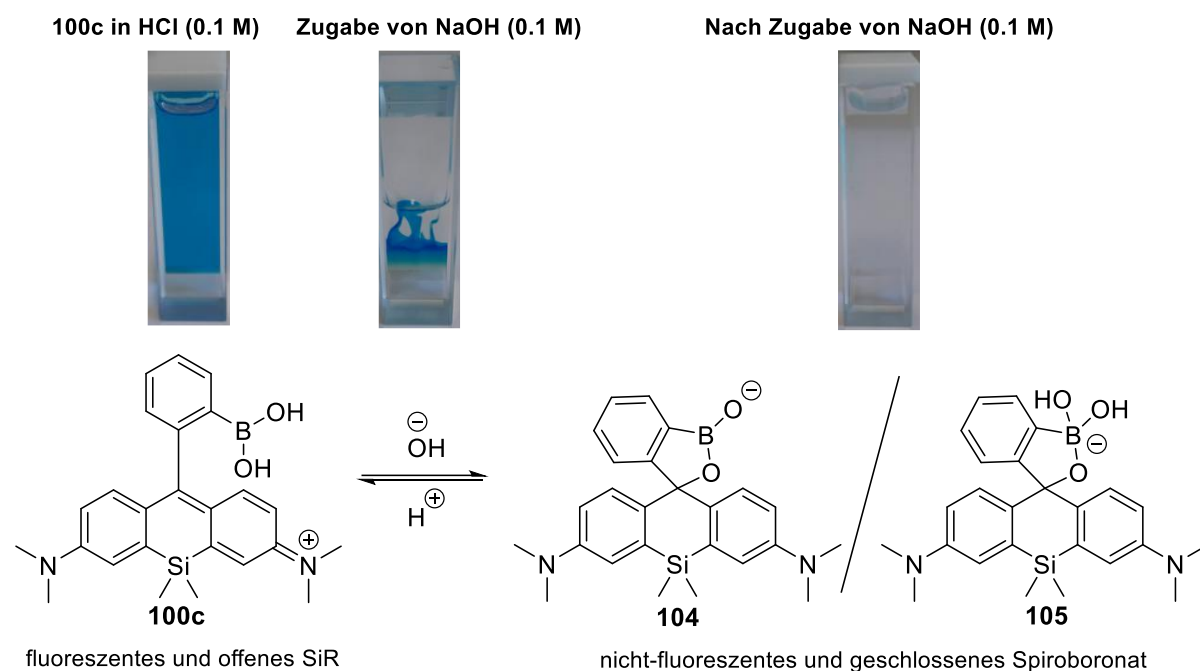
und bereits in Abbildung 8 gezeigt wurden. Zusätzlich ähneln die Spektren denen literaturbekannter Si-Rhodamine.^[131-132, 150]

Außerdem zeigen die Ergebnisse, dass die synthetisierten Si-Rhodamine ihre Absorptions- und Emissionsmaxima im tiefroten- bis NIR-Spektralbereich zwischen 640 nm und 680 nm besitzen und somit interessant für biologische Anwendungen sind. Der Vergleich der Absorptions- und Emissionseigenschaften in unterschiedlichen Lösungsmitteln zeigt eine bathochrome Verschiebung der optischen Eigenschaften von PBS zu DMSO. Dies ist möglicherweise auf negative solvatochromische Effekte zurückzuführen. Zusätzlich lässt sich aus den Absorptions- und Emissionsspektren erkennen, dass die Stokes-Verschiebungen erwartungsgemäß klein bleiben (14 nm–23 nm). Dieser Effekt ist auf eine kleine und somit geringe Änderung des elektrischen Dipolmoments zwischen dem Grund- und dem angeregten Zustand zurückzuführen und verleiht dem UV-Vis-NIR-Spektrum das bereits beschriebene spiegelähnliche Muster. Allgemein liegen die molaren Absorptionskoeffizienten der analysierten Si-Rhodamine in den polar protischen und wässrigen Lösungsmitteln (PBS oder HCl (0.1 M)) niedriger ($17.500 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ – $88.700 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) als in DMSO ($57.900 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ – $143.900 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). Dies kann auf die höhere Löslichkeit der eher lipophilen Si-Rhodamine in organischen Lösungsmitteln zurückgeführt werden. Außerdem zeigen die hohen molaren Absorptionskoeffizienten vor allem in DMSO, dass die Werte im Bereich von Charge-Transfer-Metallkomplexen (MLCT/LMCT; $>100.000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) liegen.^[99, 101] Der molare Absorptionskoeffizient von **100c** in HCl (0.1 M) zeigt, aufgrund eines besonderen Effekts, einen ziemlich niedrigen Wert von $17.500 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Dies ist auf die *ortho*-ständige Boronsäure am Phenylring relativ zum Xanthen-Gerüst zurückzuführen. Die freie Boronsäure kann im basischen Milieu das ausgedehnte und konjugierte π -System aufheben, indem im chemischen Gleichgewicht sogenannte Spiroboronate wie **104** oder **105** gebildet werden können (Schema 25).^[300] Die Ausbildung der Spiroboronat-Verbindungen führt zum Verlust der Emission im sichtbaren Bereich und folglich ist der Farbstoff im basischen Milieu farblos. Aus diesem Grund wurden die optischen Eigenschaften in einer salzsauren Lösung gemessen, um das chemische Gleichgewicht in Richtung des fluoreszenten und offenen Si-Rhodamins **100c** zu verschieben. Es wurde festgestellt, dass dieser Prozess reversibel ist. Das beschriebene Phänomen ist in Schema 25 gezeigt und wurde bereits in 1.6.2 für lactonartige Si-Rhodamine beschrieben.

Das simple Schalten zwischen der fluoreszenten und offenen mit der nicht-fluoreszenten und geschlossenen Form wird beispielsweise für die sensorische Detektion von Analyten wie einfachen Anionen (z. B. Fluoride), Zuckern oder Zellorganellen wie Lysosomen angewandt.^[300-302] Dies wurde bereits mit verwandten (Si-)Rhodaminen und anderen Fluoreszenzfarbstoffen gezeigt und wurde im Rahmen dieser Arbeit nicht näher untersucht, da besonders die Radiofluorierung des Si-Rhodamins im Fokus stand.^[300-301]

3. Ergebnisse und Diskussion

Die nicht-radioaktiven und fluorierten Si-Rhodamine **103a–103c** zeigen, im Vergleich zu den Boronsäure-funktionalisierten Si-Rhodamine **100a–100c**, insbesondere in DMSO hohe molare Absorptionskoeffizienten ($94.900 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ – $143.900 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). Da im Vergleich zum *ortho*-Boronsäure-funktionalisierten Si-Rhodamin **100c** ($17.500 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) das *ortho*-ständige Fluoratom in **103c** keine lactonartige Spiroverbindung ausbilden kann, bleibt der molare Absorptionskoeffizient verhältnismäßig hoch ($54.200 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ in PBS).



Schema 25: Die Ausbildung von farblosen und nicht-fluoreszenten Spiroboronaten **104** oder **105** im basischen Milieu durch das blaue und fluoreszente *ortho*-Boronsäure-funktionalisierte Si-Rhodamin **100c**.

Die Bestimmung der Quantenausbeuten zeigte moderate Werte in wässriger Lösung (PBS/HCl (0.1 M); 0.08–0.22) und DMSO (0.09–0.16). Insbesondere die Quantenausbeuten des *ortho*-substituierten und Boronsäure-funktionalisierten Si-Rhodamins **100c** (0.20 in HCl (0.1 M)), aber auch des *ortho*-fluorierten Si-Rhodamins **103c** (0.22 in DMSO) zeigen die höchsten Werte der Fluoreszenz. Dies ist sicherlich auf die Hemmung des photoinduzierten Elektronentransfers (PeT) durch *ortho*-ständige Substituenten am Si-Rhodamin zurückzuführen und wurde bereits in zahlreichen Publikationen diskutiert.^[131, 134] Die experimentell bestimmten Quantenausbeuten im wässrigen Medium liegen in ähnlichen Größenordnungen wie die klinisch zugelassenen Fluoreszenzfarbstoffe Protoporphyrin IX (PPIX; $\Phi_F=0.08$) und Indocyaningrün (ICG; $\Phi_F=0.09$).^[241]

Im nächsten Schritt wurde die Photostabilität der nicht-radioaktiven Si-Rhodamine in PBS ($\text{pH}=7.4$) und DMSO untersucht, da es essentiell ist, dass die organischen

3. Ergebnisse und Diskussion

Fluoreszenzfarbstoffe eine geeignete Photostabilität aufweisen, um erfolgreich für klinische Applikationen (z.B. Fluoreszenz-gestützte Chirurgie) eingesetzt zu werden.

Zur Untersuchung der Photostabilitäten der organischen Fluoreszenzfarbstoffe wurden die Farbstoffe zunächst in PBS oder DMSO gelöst und anschließend die Emission vor Bestrahlung mit NIR-Licht gemessen. Als Referenzfarbstoff wurde der kommerziell erhältliche Farbstoff Abberior® STAR 635P genutzt, da dieser nach Herstellerangaben eine geringe Tendenz zum Photobleichen besitzt und somit ziemlich photostabil ist.^[303]

Die Bestrahlung der Proben erfolgte analog zu den bereits dargestellten Experimenten (Kapitel: 3.2) mit einer Wellenlänge von 640 nm, da hier laut der Absorptionsspektren eine hohe Absorption der Farbstoffe erwartet wird. Für die Experimente wurde ein gepulster Laser (20 kW, Pulsbreite < 10 μ s) als Strahlungsquelle verwendet. Die Ergebnisse der Bestrahlung der nicht-radioaktiven Si-Rhodamine **103a–103c** sind in Abbildung 13 aufgezeigt.

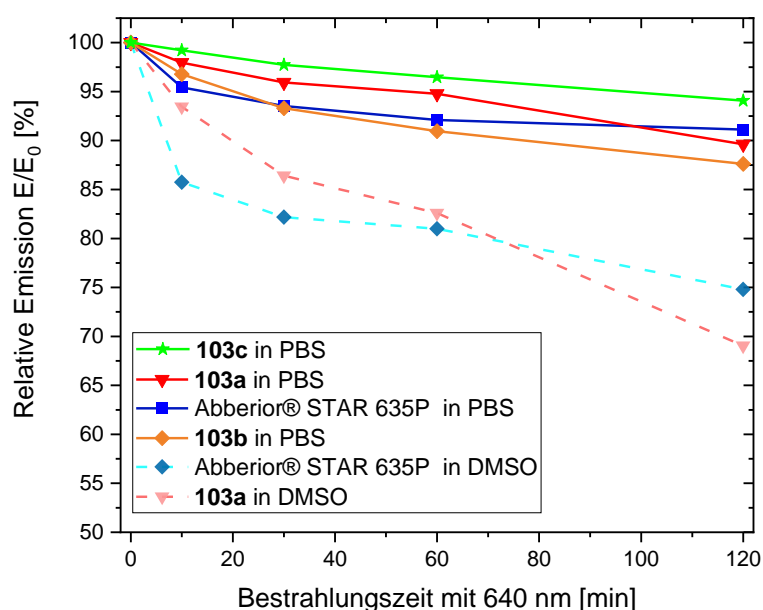


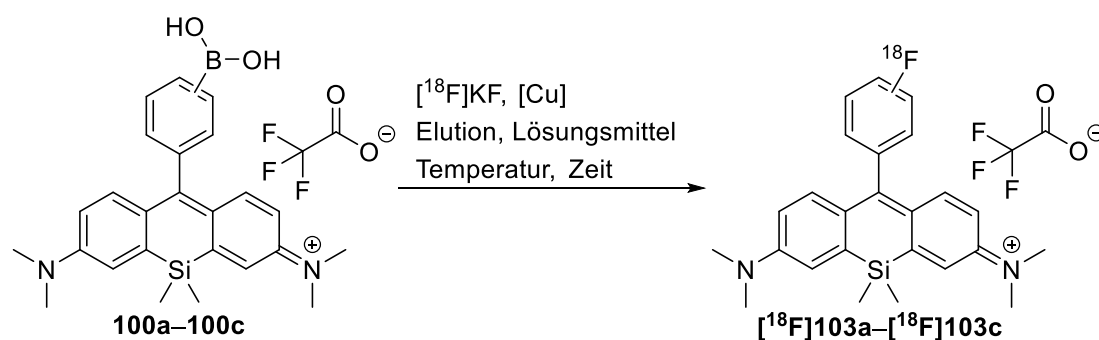
Abbildung 13: Gegenüberstellung der Photostabilitätsexperimente der Silizium-Rhodamine **103a–103c** und Abberior® STAR 635P nach Bestrahlung mit einer Wellenlänge von 640 nm bei Raumtemperatur und Messung der Emissionen. Die Proben wurden bis zu zwei Stunden mit einem gepulsten Laser (20 kW, Pulsbreite < 10 μ s) in PBS (+1% DMSO) oder in DMSO bestrahlt. Die Konzentrationen der Proben betragen zwischen 5 μ M und 10 μ M.

Wie bereits in den vorangegangenen Photostabilitätsexperimenten der Si-Rhodamine **73**, **74**, **76** und **77** gezeigt wurde, wird aus Abbildung 13 ebenfalls ersichtlich, dass **103a–103c** eine hohe Photostabilität in PBS aufweisen. So konnte nach zwei Stunden Bestrahlung eine Abnahme der Emission von maximal 12% für das Si-Rhodamin **103b** festgestellt werden. Die

anderen Regioisomere **103a** und **103c** zeigten ebenfalls eine Abnahme von weniger als 10% nach zwei Stunden. Diese Beobachtung spricht für eine hohe Photostabilität der Si-Rhodamine. Interessanterweise zeigen, unter analogen Bedingungen, das Si-Rhodamin **103a** (Abnahme: 31%) und Abberior® STAR 635P (Abnahme: 25%) in DMSO eine erhöhte Zersetzung durch Bestrahlung mit einer Wellenlänge von 640 nm. Da jedoch für biologische Anwendungen eher wässrige Lösungen wie PBS genutzt werden als reine organische Lösungsmittel wie DMSO, ist diese Erkenntnis nicht allzu ausschlaggebend für weitere Experimente.

Die nachgewiesene hohe Photostabilität der Si-Rhodamine ist ein wesentlicher Vorteil der Farbstoffe für medizinische Anwendungen und liegt somit im Kontrast zu konventionellen Farbstoffen wie Indocyaningrün oder Fluorescein, welche eine geringe Photostabilität nach Bestrahlung aufweisen.^[241, 246, 304]

Im Folgenden wurde nun die Radiofluorierung der Bor-basierenden Si-Rhodamine, welche als Vorläufer zur Fluor-18-Radiomarkierung dienen, ausführlich untersucht (Schema 26). Die Optimierung der Radiofluorierung erfolgte durch Variieren verschiedener Parameter, um eine möglichst hohe radiochemische Umsetzung (RCC, engl.: „*radiochemical conversion*“) und radiochemische Ausbeute zu erreichen (Schema 26).



Schema 26: Versuche zur Radiofluorierung der auf Bor-basierenden Vorläufer **100a–100c** unter verschiedenen Bedingungen.

Zu Beginn wurde das symmetrische Si-Rhodamin **100a** genutzt, um die Radiofluorierung zu testen und die Synthese zu optimieren. Anschließend wurden die optimierten Bedingungen der Radiofluorierung auf die anderen Bor-basierenden Si-Rhodamine angewandt. Die Ergebnisse der Radiofluorierung der Si-Rhodamine **96** und **100a–100c** sind in Tabelle 14 aufgeführt.

Die Kupfer-vermittelten Radiofluorierungen wurden in Mikroansätzen mit Probenvolumen zwischen in 25–50 μ L HPLC-Flaschen durchgeführt. Aus der Literatur sind überwiegend Reaktionsansätze bekannt, welche in verhältnismäßig großen Maßstäben mit Probenvolumen zwischen 0.5–1 mL ausgeführt werden.^[256, 285-289]

3. Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 14: Überblick über die durchgeführten Radiofluorierungsexperimente, ausgehend von den auf Bor basierenden Si-Rhodaminen **96** und **100a–100c** und den unterschiedlichen Bedingungen. Die Evaluierung der Reaktionen erfolgte durch Betrachtung der ermittelten radiochemischen Umsetzungen (RCC) und der radiochemischen Ausbeuten (RCY).

Eintrag	Vorläufer	Elutionsmethode	[Cu]-Komplex	Lösungsmittel	Temperatur	Zeit	Verhältnis Vorläufer:[Cu]	RCC	RCY		
1	100a	DMAPH ⁺ OTf ⁻ [a]	[Cu(OTf) ₂ (py) ₄]	DMA	100 °C	20 min	1:4	3% ^[d]	-		
2				DMA	110 °C	20 min	1:4	6% ^[d]	-		
3				DMA	120 °C	20 min	1:4	25% ^[d]	14.0±0.3% (n=3)		
4				DMF	120 °C	20 min	1:4	0% ^[d]	-		
5				DMA	120 °C	20 min	4:1	0% ^[d]	-		
6				DMA	120 °C	40 min	1:4	10% ^[d]	-		
7				DMA	140 °C	20 min	1:4	10% ^[d]	-		
8				DMA	140 °C	40 min	1:4	5% ^[d]	-		
9				DMA	160 °C	20 min	1:4	0% ^[d]	-		
10				DMA	160 °C	40 min	1:4	0% ^[d]	-		
11	100b	<i>n</i> -BuOH/TEAHCO ₃ [b]	[Cu(OTf) ₂ (py) ₄]	DMA	120 °C	20 min	1:4	0% ^[d]	-		
12	100c			DMA	120 °C	20 min	1:4	0% ^[d]	-		
13	100a			DMA	120 °C	20 min	1:4	16% ^[d]	15% (n=1)		
14				DMA	120 °C	20 min	1:1	12% ^[e]	-		
15				DMA	120 °C	20 min	4:1	4% ^[e]	-		
16	100b			DMA	120 °C	20 min	1:4	0% ^[d]	-		
17	100c			DMA	120 °C	20 min	1:4	0% ^[d]	-		
18	100a			KOTf/K ₂ CO ₃ [c]	[Cu(OTf) ₂ (py) ₄]	DMA	120 °C	20 min	1:4	35% ^[d]	25±4% (n=3)
19						DMA	120 °C	20 min	1:4	70% ^[d]	54±1% (n=2)
20	100b					DMA	120 °C	20 min	1:4	48% ^[d]	33% (n=1)
21	100c	DMA	120 °C			20 min	1:4	0% ^[d]	-		
22	100a	[Cu(OTf) ₂ (impy) ₄]	DMA			120 °C	20 min	1:4	18% ^[d]	-	
23	100b		DMA			120 °C	20 min	1:4	0% ^[d]	-	
24	100c		DMA			120 °C	20 min	1:4	0% ^[d]	-	
25	96	KOTf/K ₂ CO ₃ [c]	[Cu(OTf) ₂ (py) ₄]			DMA	120 °C	20 min	1:4	0% ^[d]	-
26						DMA	120 °C	20 min	1:4	0% ^[d]	-

[a] Die Elution wurde mit einer Lösung aus 4-(Dimethylamino)-pyridiniumtriflat (DMAPH⁺OTf⁻; 6.8 mg in 500 µL DMA/DMF) und einer WAX-Anionenaustausch-Kartusche (WAX, engl.: „*weak anion exchange cartridge*“) durchgeführt. [b] Die Elution wurde mit einer Lösung aus Tetraethylammoniumhydrogencarbonat (TEAHCO₃; 2.7 mg in 400 µL *n*-Butanol) und einer QMA-Kartusche (QMA, engl.: „*quarternary methyl ammonium cartridge*“) durchgeführt. [c] Die Elution wurde mit einer Lösung aus Kaliumtrifluormethansulfonat (KOTf; 5 mg) und Kaliumcarbonat (50 µg) in Wasser (500 µL) und Acetonitril (1 mL) und einer QMA-Kartusche durchgeführt. Nach Elution wurde das Lösungsmittelgemisch bei 130 °C, mithilfe eines Heliumstroms, entfernt. [d] Die radiochemische Umsetzung wurde mittels UHPLC oder [e] über die Radio-DC ermittelt. DMA: Dimethylacetamid; DMI: 1,3-Dimethyl-2-imidazolidinon.

Die Verwendung dieser Mikroansätze, unter Beibehaltung der selben Stöchiometrie der Makroansätze, verspricht einen nicht allzu hohen Substanzverbrauch und ermöglicht zusätzlich die Untersuchung vieler Reaktionsansätze in relativ kurzer Zeit.^[305] Diese Strategie ist somit vor allem für Arbeiten mit dem kurzlebigen Radionuklid Fluor-18 vorteilhaft. Des Weiteren führt die Ausführung der Radiofluorierungen in Minimalmaßstäben zu einer

geringeren Gefahr der Kontaminationen der Reaktionen durch nicht-radioaktives Fluor-19, da die Verwendung von geringeren Mengen an Vorläufern, Lösungsmitteln und Reaktanden die Wahrscheinlichkeit von Fluor-19-Verunreinigungen mindert. Dies kann zu höheren molaren Aktivitäten führen.^[306] Wie bereits aufgezählt, wurden zur Kupfer-vermittelten Radiofluorierung der Si-Rhodamine zunächst literaturbekannte Methoden nach Antuganov, Mossine, Tredwell und Zischler *et al.* zur Radiofluorierung der Arylboronsäuren **100a–100c** und des Phenylpinakolesters **96** angewandt.^[287, 289, 307-308] Die angegebenen radiochemischen Umsetzungen (RCCs) wurden entweder mittels radioaktiver Dünnschichtchromatographie (Radio-DC) (DCM/MeOH 85:15 auf Kieselgel) oder mithilfe einer geeigneten analytischen UHPLC-Methode (25–75% MeCN/H₂O+0.1% v/v TFA als Additiv, linearer Gradient in 4.0 Minuten, *System 7*) analysiert. Dabei wurde die radiochemische Umsetzung bestimmt, indem das Verhältnis zwischen freiem [¹⁸F]Fluorid und dem entstandenen radiofluoriertem Si-Rhodamin in absoluten Prozentzahlen berechnet wurde.

Im ersten Schritt wurde die Radiofluorierung der Si-Rhodamine **100a–100c** nach Antuganov *et al.* mit dem Kupfer(II)-Komplex Tetrakis(pyridin)kupfer(II)bis(trifluormethansulfonat) [Cu(OTf)₂(py)₄] und unterschiedlichen Verhältnissen zwischen dem Vorläufer und dem Kupfer(II)-Komplex durchgeführt (Tabelle 14; Einträge: 1–12).^[307] Demnach wurde nach Fixierung des freien [¹⁸F]Fluorids auf einer WAX-Anionenaustausch-Kartusche (WAX, engl.: „*weak anion exchange cartridge*“) das [¹⁸F]Fluorid mithilfe einer Lösung aus *N,N*-(4-Dimethylamino)-pyridinium-trifluormethansulfonat (DMAPH⁺OTf⁻) in Dimethylacetamid (DMA) eluiert. Anschließend wurde das Eluat zu einer Mischung aus dem Vorläufer **100a** (0.40 µmol; ein Äquivalent) und dem Kupfer-Komplex [Cu(OTf)₂(py)₄] (1.60 µmol, vier Äquivalente) im Stoffmengenverhältnis 1:4 gegeben. Das Gesamtvolumen der Reaktion in der HPLC-Flasche betrug 40 µL. Anschließend wurde die Reaktion für 20 Minuten auf 100 °C erhitzt und danach die Reaktionsmischung mittels Radio-HPLC analysiert (Eintrag: 1). Nach Auswertung der Radio-HPLC wurde lediglich ein Umsatz von 3% festgestellt. Aus diesem Grund wurde eine Variation der Temperaturen (100 °C–160 °C), aber auch der Reaktionszeiten (20 Minuten–40 Minuten) durchgeführt, um die höchstmögliche radiochemische Umsetzung zu erhalten (1–3 und 6–10) und um die Reaktion zu optimieren. Die Ergebnisse sind in Tabelle 15 gezeigt und in Abbildung 14 veranschaulicht.

3. Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 15: Überblick über die durchgeführten Optimierungsversuche zur Radiofluorierung von **100a** mit Pyridinium-trifluormethansulfonat (DMAPH⁺OTf⁻) in DMA als Elutionslösung, dem Kupfer(II)-Komplex Tetrakis(pyridin)kupfer(II)bis(trifluormethansulfonat) [Cu(OTf)₂(py)₄] und einem Stoffmengenverhältnis von 1:4 (Verhältnis Vorläufer zu Kupfer(II)-Komplex) bei verschiedenen Reaktionstemperaturen und Reaktionszeiten. Die RCCs wurden nach Auswertung der entsprechenden Radio-HPLC-Chromatogramme ermittelt.

Temperatur	RCC nach 20 min	RCC nach 40 min
100 °C	1,5±2,1% (n=2)	-
110 °C	4,9±2,1% (n=2)	-
120 °C	16,7±3,8% (n=7)	10,4% (n=1)
140 °C	10,4% (n=1)	4,9% (n=1)
160 °C	0% (n=1)	0% (n=1)

Aus Tabelle 15 und Abbildung 14 wird genau ersichtlich, dass die höchsten radiochemischen Umsetzungen für eine Reaktionstemperatur von 120 °C und der Reaktionszeit von 20 Minuten erhalten wird (RCC: 16,7±3,8% (n=7)). Höhere Temperaturen und längere Reaktionszeiten führen zu einer Abnahme der RCCs.

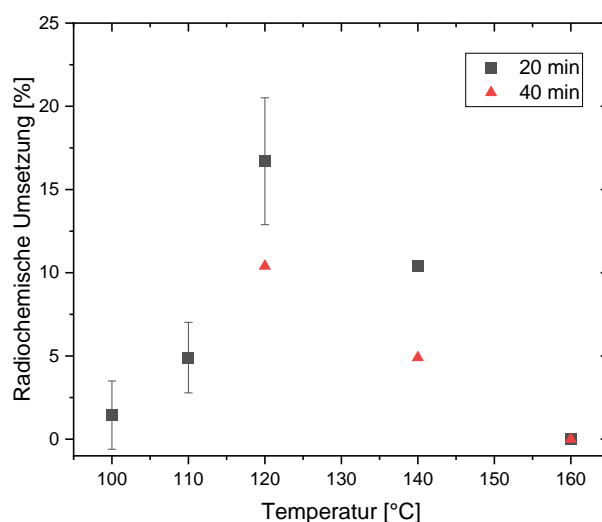


Abbildung 14: Abhängigkeit der Reaktionstemperatur und Reaktionszeit der Radiofluorierung von **100a** mit Pyridinium-trifluormethansulfonat (DMAPH⁺OTf⁻) in DMA als Elutionslösung, dem Kupfer(II)-Komplex Tetrakis(pyridin)kupfer(II)bis(trifluormethansulfonat) [Cu(OTf)₂(py)₄] und einem Stoffmengenverhältnis von 1:4 (Verhältnis Vorläufer zu Kupfer(II)-Komplex). Die RCCs wurden nach Auswertung der entsprechenden Radio-HPLC-Chromatogramme ermittelt.

Folglich lässt sich für diese Elutionsmethode und den Ergebnissen feststellen, dass die optimalen Bedingungen zur Radiofluorierung von **100a** bei einer Reaktionstemperatur von

120 °C und einer Reaktionszeit von 20 Minuten liegen. Die Isolierung des radioaktiven Si-Rhodamins [^{18}F]**103a** nach HPLC-Aufreinigung, Festphasenextraktion (SPE, engl.: „*solid phase extraction*“) und anschließender Entfernung des Lösungsmittels Acetonitril (mit 0.1% TFA als Additiv) unter reduziertem Druck und bei 80 °C ergab eine radiochemische Ausbeute von $14.0 \pm 0.3\%$ ($n=3$) mit einer sehr hohen radiochemischen Reinheit von über 99%. Interessanterweise zeigt sich, dass die Reaktion unter analogen Bedingungen in Dimethylformamid (DMF) anstatt DMA keine Umsetzung zeigt (Tabelle 14; Eintrag: 4) und unterstreicht somit unter diesen Bedingungen die Notwendigkeit von DMA zur Radiofluorierung der Si-Rhodamine. Ebenfalls zeigt sich, dass ein Überschuss des Vorläufers **100a** (vier Äquivalente) im Vergleich zum Kupfer-Komplex $[\text{Cu}(\text{OTf})_2(\text{py})_4]$ (ein Äquivalent) im Verhältnis von 4:1 zu keiner Radiomarkierung von **100a** führt (Eintrag: 5).

Die Radiofluorierung der Regioisomere **100b** und **100c** mit diesen optimierten Bedingungen mit einer Reaktionszeit von 20 Minuten bei einer Reaktionstemperatur von 120 °C konnte überraschenderweise keine Umsetzung liefern (Einträge: 11/12).

Im nächsten Schritt wurde die Radiomarkierung der Si-Rhodamine **100a–100c** mit der Alkohol-unterstützten und Kupfer-vermittelten Radiofluorierung nach Zischler *et al.* durchgeführt (Einträge: 13–17).^[289] Hierfür wurden sogenannte QMA-Kartuschen (QMA, engl.: „*quarternary methyl ammonium cartridge*“) zur Elution des fixierten [^{18}F]Fluorids gewählt. Die Elution des [^{18}F]Fluorids wurde mithilfe einer Lösung von *n*-Butanol und der Base Tetraethylammoniumhydrogencarbonat (TEAHCO_3) in DMA durchgeführt. Die Radiofluorierung des Si-Rhodamins **100a** (ein Äquivalent) erfolgte erneut mit dem Kupfer-Komplex $[\text{Cu}(\text{OTf})_2(\text{py})_4]$ (vier Äquivalente) für 20 Minuten bei 120 °C. Unter diesen Bedingungen konnte ein radiochemischer Umsatz von 16% und nach HPLC-Aufreinigung eine radiochemische Ausbeute von 15% mit hoher radiochemischer Reinheit (>99%) von [^{18}F]**103a** erzielt werden (Eintrag: 13). Die Änderung des stöchiometrischen Verhältnisses des Vorläufers **100a** zum Kupfer-Komplex zu 1:1 führte zu einer Abnahme der radiochemischen Umsetzung auf 12% (Eintrag: 14). Dagegen zeigte ein Überschuss des Vorläufers **100a** mit dem stöchiometrischen Verhältnis von 4:1 (Kupfer(II)-Komplex) lediglich eine RCC von 4% (Eintrag: 15). Somit zeigt sich, dass erhöhte radiochemische Ausbeuten von **100a** nur durch den Einsatz des $[\text{Cu}(\text{OTf})_2(\text{py})_4]$ -Komplexes mit einem stöchiometrischen Überschuss möglich sind. In weiteren Schritten wurde unter den optimierten Bedingungen eine mögliche Radiofluorierung von **100b** und **100c** untersucht (Einträge: 16/17). Jedoch konnten auch für diese Bedingungen keine Umsetzungen der Boronsäure-funktionalisierten Si-Rhodamine erhalten werden.

Im Gegensatz zu den vorherigen Bedingungen der Radiofluorierung der Si-Rhodamine **100a–100c** wurde in den folgenden Markierungsexperimenten das reaktive [^{18}F]Fluorid, unter azeotroper Trocknung des Eluats erhalten (Einträge: 18–26). Diese Synthesevorschriften

beruhen auf den Arbeiten von Mossine und Tredwell *et al.*^[285, 287-288] Für diese Reaktionen wurden ebenfalls die QMA-Kartuschen zur Elution des fixierten Fluorid-18 verwendet. Dabei erfolgte die Elution des [¹⁸F]Fluorids mit Kaliumtrifluormethansulfonat (KOTf) und Kaliumcarbonat in einer 2:1 Mischung aus Acetonitril und deionisiertem Wasser. Das durch die Elutionslösung erhaltene [¹⁸F]Fluorid wurde bei 130 °C mit einem Helium-Strom für drei Minuten getrocknet und eingeeengt. Anschließend wurde eine Mischung des entsprechenden Si-Rhodamins und dem Kupfer-Komplex im jeweiligen Lösungsmittel dazugeben (Einträge: 18–26).

Die Durchführung dieser Reaktion, analog zu den vorherigen optimierten Bedingungen mit dem Vorläufer **100a** und dem Kupfer-Komplex [Cu(OTf)₂(py)₄] (Verhältnis 1:4) für 20 Minuten bei 120 °C führte zu einer moderaten RCC von 35% und einer radiochemischen Ausbeute von 25±4% (*n*=3) (Eintrag: 18).

Da Wilson *et al.* von höheren radiochemischen Ausbeuten durch den Einsatz des auf Harnstoff-basierenden Lösungsmittel 1,3-Dimethyl-2-Imidazolidinon (DMI) berichteten, wurde das Lösungsmittel unter den selben Bedingungen, getestet (Eintrag: 19).^[308] Überraschenderweise führte der simple Austausch des DMA durch DMI zu dem besten Ergebnis dieser Optimierungsreaktionen mit einem RCC von 70%. Die Isolierung des [¹⁸F]**103a** ergab eine gute RCY von 54±1% (*n*=2).

Zudem wurde bei diesen Bedingungen erfolgreich festgestellt, dass die Radiofluorierung des Regioisomers **100b** zu einer RCC von 48% und einer RCY von 33% von [¹⁸F]**103b** führte (Eintrag: 20). Allerdings konnte mithilfe dieser Bedingungen keine Umsetzung des Regioisomers **100c** festgestellt werden (Eintrag: 21).

Die Nutzung eines alternativen Kupfer(II)-Komplexes [Cu(OTf)₂(impy)₄], welcher in der Literatur ebenfalls zur Radiofluorierung angegeben wurde, führte lediglich zur Radiofluorierung von **100a** mit einem radiochemischen Umsatz von 18% zu [¹⁸F]**103a** (Eintrag: 22).^[308] Erneut konnten für die Vorläufer **100b** (Eintrag: 23) und **100c** (Eintrag: 24) keine erfolgreichen Radiofluorierungen unter diesen Bedingungen festgestellt werden.

Ein möglicher Grund, warum in allen durchgeführten Methoden die Radiofluorierung des *ortho*-ständigen Arylboronsäure-funktionalisierten Si-Rhodamins **100c** nicht festgestellt werden konnte, ist möglicherweise die Ausbildung der bereits diskutierten farblosen Spiroboronate **104** und **105**, welche in einer basischen Umgebung bevorzugt gebildet werden. Da die durchgeführten Radiofluorierungen stets in basischer Umgebung mit beispielsweise DMAPH⁺OTf, TEAHCO₃ und K₂CO₃ stattfanden, ist die Präsenz der Spiroboronate in den jeweiligen Reaktionslösungen wahrscheinlich. Somit kann angenommen werden, dass im Vergleich zu den Boronsäure-funktionalisierten Si-Rhodaminen **100a** und **100b** die gebildeten Spiroboronate **104** und **105** aufgrund von sterischer Hinderung, nicht aktiv am Katalysezyklus mitwirken können, sodass keine erfolgreiche Radiofluorierung von **100c** erfolgt.

Außerdem wurde überraschend festgestellt, dass die optimierten Bedingungen von Eintrag 18 und Eintrag 19 zu keiner Umsetzung des Phenylpinakolester-funktionalisierten Si-Rhodamins **96** führten. Diese Feststellung liegt nicht im Einklang mit anderen Vorläufern aus der Literatur, in denen vorwiegend Derivate von Phenylpinakolestern zur Radiofluorierung genutzt werden.^[288, 308]

Die erfolgreiche Synthese und Identität der gereinigten Si-Rhodamine [**¹⁸F**]**103a** und [**¹⁸F**]**103b** wurde nach der semi-präparativen Aufreinigung mittels Radio-HPLC nachgewiesen (Abbildung 15). Anhand der (Radio-)HPLC-Chromatogramme lässt sich feststellen, dass die nicht-radioaktiven Si-Rhodamine **103a** ((b) [NIR Absorption, 650 nm], $R_t=21.7$ min) und **103b** ((d) [NIR Absorption, 650 nm], $R_t=22.2$ min) ähnliche Retentionszeiten aufweisen wie die entsprechenden isostrukturellen radiofluorierten Si-Rhodamine [**¹⁸F**]**103a** ((a) [γ -Detektion], $R_t=22.0$ min) und [**¹⁸F**]**103b** ((c) [γ -Detektion], $R_t=22.6$ min). Außerdem zeigen die Radio-HPLC-Chromatogramme aus Abbildung 15 die erzielte sehr hohe radiochemische Reinheit der beiden radiomarkierten Si-Rhodamine [**¹⁸F**]**103a** und [**¹⁸F**]**103b**.

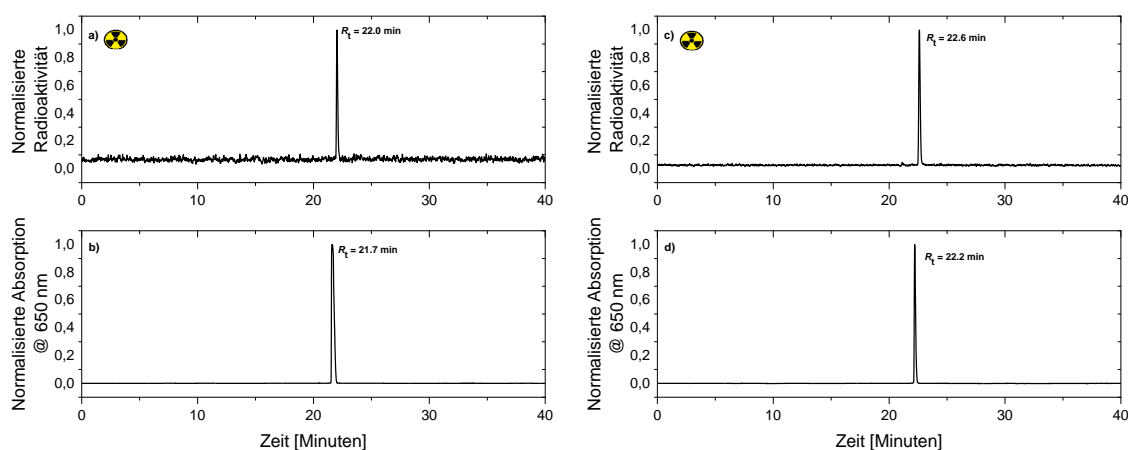


Abbildung 15: Identitätsnachweis von [**¹⁸F**]**103a** und [**¹⁸F**]**103b**. Überblick der normalisierten Radio-HPLC-Chromatogramme a) von [**¹⁸F**]**103a** [γ -Detektion, Zählrate] mit $R_t=22.0$ Minuten und b) **103a** als nicht-radioaktive Referenzsubstanz [UV-Detektion, 650 nm] mit $R_t=21.7$ Minuten und c) von [**¹⁸F**]**103b** [γ -Detektion, Zählrate] mit $R_t=22.6$ Minuten und d) **103b** als nicht-radioaktive Referenzsubstanz [UV-Detektion, 650 nm] mit $R_t=22.2$ Minuten. Methode: 25–75% MeCN/H₂O+0.1% v/v TFA als Additiv, linearer Gradient in 28 Minuten, System 7.

Die Radio-HPLC-Chromatogramme geben auch einen Hinweis auf die Lipophilie der beiden radiofluorierten Verbindungen. Da [**¹⁸F**]**103a** ($R_t=22.0$ Minuten) eine niedrigere Retentionszeit als [**¹⁸F**]**103b** ($R_t=22.6$ Minuten) besitzt, kann von einer höheren Hydrophilie ausgegangen werden, da zur Messung der HPLC-Chromatogramme „reverse-phase“-C₁₈-Säulen genutzt wurden. In diesem Fall geben niedrigere Retentionszeiten Hinweise auf eine höhere Hydrophilie. Schließlich wurde mithilfe des herkömmlichen „shake flask-Verfahrens“

experimentell der Verteilungskoeffizient in einem *n*-Oktanol/PBS-Gemisch bestimmt und die Vermutung bestätigt.^[309] Der experimentell ermittelte Verteilungskoeffizient von [¹⁸F]**103a** lag bei $\log D_{\text{pH}=7.4}=2.92\pm 0.32$ und für [¹⁸F]**103b** wurde ein $\log D_{\text{pH}=7.4}=3.22\pm 0.18$ bestimmt. Die erhöhte Lipophilie der beiden radiofluorierten Si-Rhodamine sollte berücksichtigt werden, wenn die Grundstrukturen der Si-Rhodamine zur Einführung von Targetvektoren eingesetzt werden sollen. Da jedoch Targetvektoren wie beispielsweise das [¹⁸F]PSMA-1007-Bindungsmotiv eine hohe Zahl an hydrophilen Gruppen wie Carbonsäure- und Aminosäuregruppen besitzen, kann die Lipophilie der Si-Rhodamine zu einem gewissen Teil kompensiert werden.

Im nächsten Schritt wurden die molaren Aktivitäten von [¹⁸F]**103a** und [¹⁸F]**103b** bestimmt. Zur experimentellen Bestimmung der molaren Aktivität wurden für die nicht-radioaktiven Si-Rhodamine **103a** und **103b** Kalibriergeraden erstellt. Hierzu wurden unterschiedliche Stammlösungen der nicht-radioaktiven Si-Rhodamine in Acetonitril hergestellt und anschließend definierte Stoffmengen (10 fmol–5000 fmol) von **103a** und **103b** in einem Acetonitril-Wasser-Gemisch in die HPLC (55% MeCN/H₂O+0.1% v/v TFA als Additiv, isokratischer Verlauf in 15 Minuten, System 7) injiziert. So wurden beispielsweise zur Bestimmung der molaren Aktivität des Si-Rhodamins [¹⁸F]**103b** die HPLC-Chromatogramme mit Detektion der Fluoreszenz (Anregungswellenlänge: $\lambda_{\text{anregung}}=600$ nm; Messung der Fluoreszenz: $\lambda_{\text{em}}=640$ nm) in Abhängigkeit der injizierten Stoffmenge von **103b** gemessen und in Abbildung 16 dargestellt.

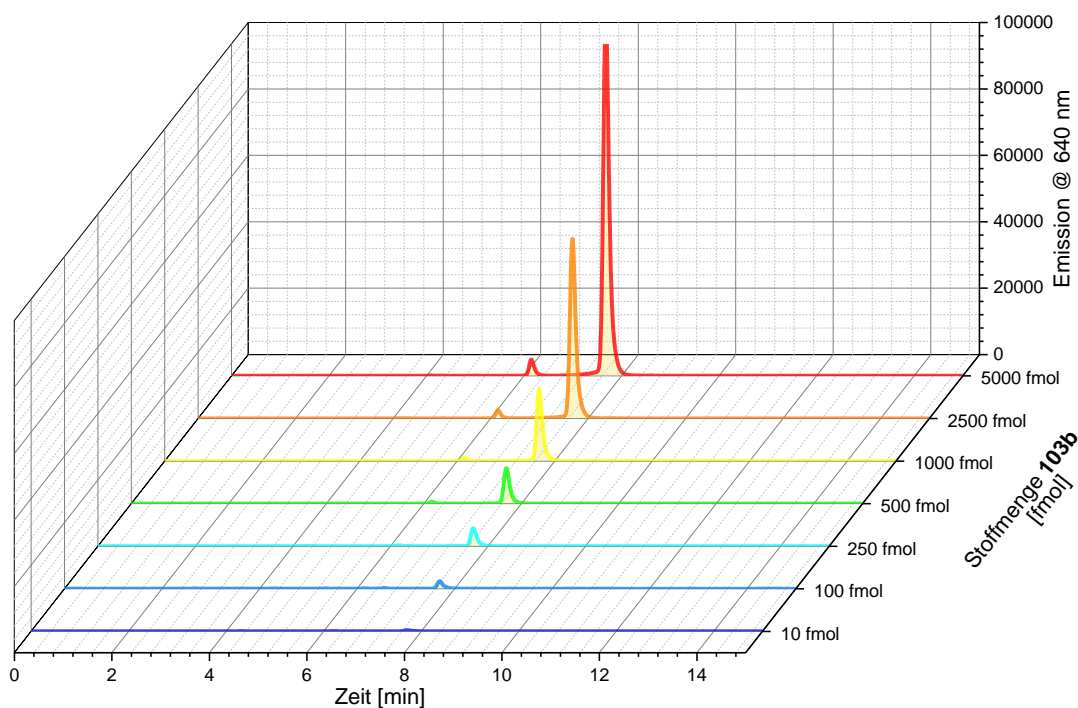


Abbildung 16: Bestimmung der molaren Aktivität von [^{18}F]**103b**. HPLC-Chromatogramme des nicht-radioaktiven Si-Rhodamins **103b**, welches mit unterschiedlichen Stoffmengen (10 fmol–5000 fmol) in die HPLC injiziert wurde. Die Hauptsignale ($R_t=7.9$ Minuten) können **103b** zugeordnet werden. In den HPLC-Chromatogrammen mit Stoffmengen über 1000 fmol wurde eine Verunreinigung festgestellt ($R_t=6.1$ Minuten), welche nicht näher charakterisiert wurde. Die HPLC-Chromatogramme wurden im Fluoreszenzmodus gemessen ($\lambda_{\text{Anregung}}=600$ nm; $\lambda_{\text{em}}=640$ nm). Methode: 55% MeCN/H₂O+0.1% v/v TFA als Additiv, isokratischer Verlauf in 15 Minuten, System 7.

Anschließend wurden die erhaltenen Signale der unterschiedlich injizierten Stoffmengen genutzt, um deren Kurvenflächen zu bestimmen. Die Relation zwischen der berechneten Fläche wurde dann gegen die in die HPLC injizierte Stoffmenge aufgetragen und die erhaltenen Werte mit einer Ausgleichsgeraden ausgedrückt (Abbildung 16).

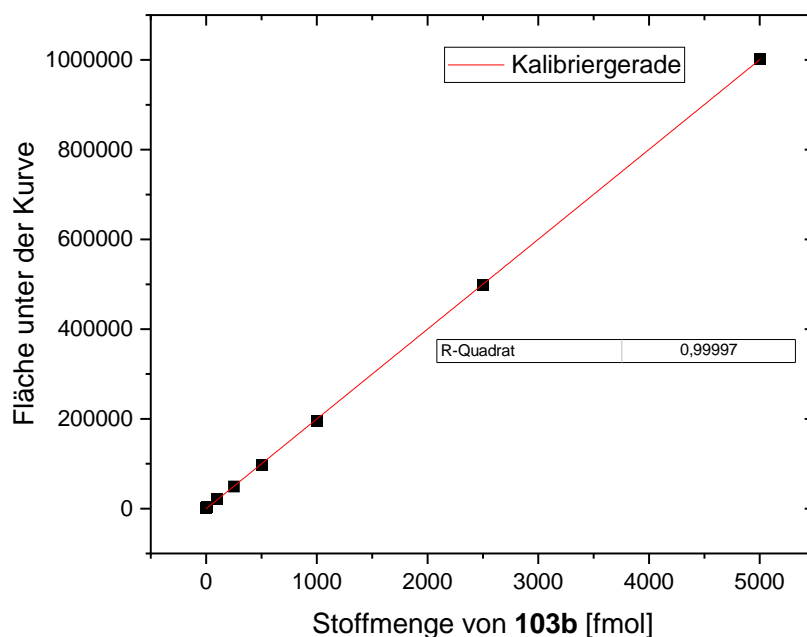


Abbildung 17: Kalibriergerade zur Bestimmung der molaren Aktivität von $[^{18}\text{F}]\mathbf{103b}$ durch Zuhilfenahme der Werte der aus Abbildung 16. Die unterschiedlichen Stoffmengen und die daraus resultierenden Kurvenflächen wurden gegeneinander aufgetragen und danach eine Ausgleichsgerade zwischen den Werten erstellt.

Mithilfe der Ausgleichsgeraden kann nun die Stoffmenge der radioaktiven Verbindungen ($[^{18}\text{F}]\mathbf{103a}$ oder $[^{18}\text{F}]\mathbf{103b}$), welche in der Radio-HPLC gemessen wurden, berechnet werden, indem das dazugehörige Fluoreszenzsignal von $[^{18}\text{F}]\mathbf{103a}$ oder $[^{18}\text{F}]\mathbf{103b}$ integriert wird. Gemäß Gleichung (3) kann nun die molare Aktivität bestimmt werden:

$$A_M = \frac{A_{\text{injiziert}}}{n_{\text{injiziert}}} \quad (3)$$

A_M steht für die molare Aktivität. $A_{\text{injiziert}}$ drückt die Radioaktivität aus, welche in die Radio-HPLC injiziert wurde. Die Stoffmenge der radioaktiven Verbindung, welche mithilfe des Fluoreszenzsignals aus der HPLC und der Ausgleichsgeraden bestimmt wurde, wird mit $n_{\text{injiziert}}$, beschrieben. Somit kann die molare Aktivität A_M berechnet werden, indem das Verhältnis zwischen der in die HPLC injizierte Aktivität in Becquerel und der in die HPLC injizierten Stoffmenge in Mol gebildet wird.

Mithilfe dieser Methodik konnten für $[^{18}\text{F}]\mathbf{103a}$ molare Aktivitäten von $A_m = 70.1 \pm 3.2 \text{ GBq}/\mu\text{mol}$ ($n=7$) und für $[^{18}\text{F}]\mathbf{103b}$ $A_m = 42.8 \pm 9.5 \text{ GBq}/\mu\text{mol}$ ($n=2$) nach Ende der Synthese (EOS, engl.: „end of synthesis“) bestimmt werden. Diese Werte zeigen teilweise höhere Werte der molaren Aktivität im Vergleich zu den gezeigten Radiotracer aus Abbildung 5 bzw. auch der Literatur.^[15, 281]

Im nächsten Schritt wurden erste *in vitro* Stabilitäten der radiofluorierten Si-Rhodamine **[¹⁸F]103a** und **[¹⁸F]103b** untersucht, nachdem beide Si-Rhodamine nach zwei Stunden keine Zersetzung in einer Lösung aus Phosphat-gepufferter Kochsalzlösung (PBS; *pH*=7.4) zeigten. Zur *in vitro* Stabilitätsuntersuchung wurde humanes Serum verwendet. Die radiofluorierten Si-Rhodamine wurden zum humanen Serum gegeben und bei 37 °C für zwei Stunden inkubiert. Nach unterschiedlichen Zeitpunkten wurden Aliquote entnommen und nach Fällung der Proteine durch Zugabe von Acetonitril mittels einer entsprechenden HPLC-Methode (55% MeCN/H₂O+0.1% v/v TFA als Additiv, isokratischer Verlauf in 15 Minuten, *System 7*) in der Radio-HPLC untersucht. In Tabelle 16 sind die Ergebnisse der Stabilitätsuntersuchungen in humanem Serum zusammengefasst.

Tabelle 16: Überblick der Stabilitätsexperimente von **[¹⁸F]103a** und **[¹⁸F]103b** in humanem Serum nach Inkubation bei 37 °C nach unterschiedlichen Zeitpunkten. Die Stabilitätsuntersuchungen wurden mittels Radio-HPLC untersucht. Methode: 55% MeCN/H₂O+0.1% v/v TFA als Additiv, isokratischer Verlauf in 15 Minuten, *System 7*.

Zeit	Prozentualer Anteil des intakten SiR [¹⁸ F]103a nach Inkubation in humanem Serum bei 37 °C nach verschiedenen Zeitpunkten	Prozentualer Anteil des intakten SiR [¹⁸ F]103b nach Inkubation in humanem Serum bei 37 °C nach verschiedenen Zeitpunkten
0 min	>99%	>99%
10 min	98±1%	96±1%
30 min	90±2%	92±2%
60 min	84±4%	83±1%
120 min	80±8%	74±1%

Aus Tabelle 16 wird ersichtlich, dass für beide radiofluorierten Si-Rhodamine **[¹⁸F]103a** und **[¹⁸F]103b** eine gewisse Instabilität gegenüber dem humanen Serum festzustellen ist. So sind nach zwei Stunden lediglich 80% des **[¹⁸F]103a** intakt, während für **[¹⁸F]103b** nur 74% des ursprünglich radiofluorierten Si-Rhodamins intakt sind. Diese Beobachtung zeigt, dass die vermeintlich starke Fluor-18-Kohlenstoff-Bindung *in vitro* nicht allzu stabil ist und es somit zu Defluorierungen bzw. zur Metabolisierung kommen kann.^[310] Die entstandenen Abbauprodukte wurden nicht weiter analysiert. Der Umstand der Instabilität sollte für künftige Derivatisierungen am Si-Rhodamin-Grundgerüst berücksichtigt werden.

Die Si-Rhodamine **103a** und **103b** besitzen, aufgrund ihrer im gesamten Molekül delokalisiert verteilten positiven Ladung und der hohen Lipophilie, die notwendigen Eigenschaften zur Aufnahme in die Mitochondrien von Zellen. Das negative Membranpotenzial der inneren mitochondrialen Membran verhilft im Generellen ebenfalls, kationische und lipophile Verbindungen (wie z.B. Triphenylphosphonium-Kationen oder Rhodamine) in die Mitochondrien zu schleusen.^[174, 311]

3. Ergebnisse und Diskussion

Aus diesem Grund wurden die nicht-radioaktiven Si-Rhodamine **103a** und **103b** auf eine etwaige mitochondriale Anreicherung mittels konfokaler Laserscanning-Mikroskopie in Kollokalisationsexperimenten untersucht. Hierfür wurden frische PC3-Zellen, eine humane Prostatakarzinom-Zelllinie, kultiviert und mit den Si-Rhodaminen **103a** und **103b** behandelt. Des Weiteren wurde zur Kollokalisierung der kommerziell erhältliche und stark mitochondrial-gängige Farbstoff Mitotracker® Green FM genutzt, um die mitochondriale Aufnahme der Si-Rhodamine mit dem Mitotracker® Green FM zu vergleichen. Zur optimalen Differenzierung zwischen Mitochondrien und den Zellkernen wurden die Zellkerne mit dem kommerziell erhältlichen Kernfarbstoff Hoechst 33342 eingefärbt. In Abbildung 18 ist die Einfärbung der Zellkerne mit dem Kernfarbstoff Hoechst 33342 (Kanal 1: blau) und die Färbung der Mitochondrien durch die Si-Rhodamine (Kanal 2: rot, a) **103a** und b) **103b**) und dem Mitotracker® Green FM (Kanal 3: grün) gezeigt. Zudem ist eine Überlagerung aller Kanäle in Kanal 4 gezeigt.

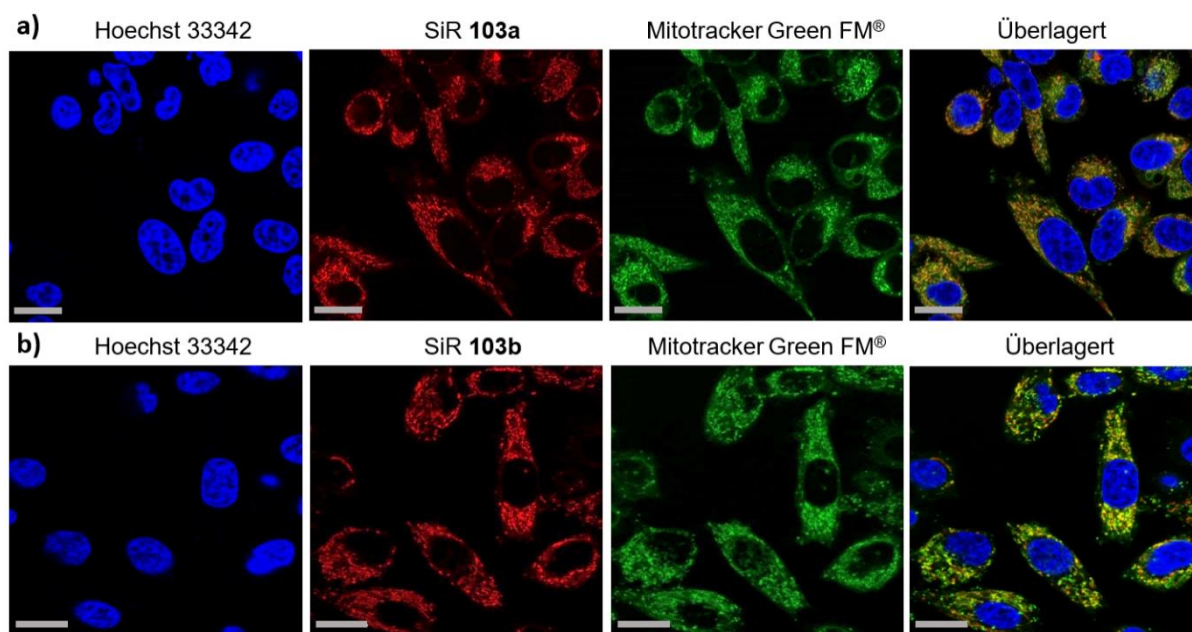


Abbildung 18: Konfokale Laserscanning-Mikroskopie Aufnahmen des Kernfarbstoffs Hoechst 33342 (blau), der mitochondrial-gängigen Si-Rhodamine **103a** (a) und **103b** (b) (rot) und dem kommerziell erhältlichen Mitotracker® Green FM (grün) in frisch kultivierten PC3-Zellen. Skalierungsbalken: 30 μ m.

Die konfokalen Mikroskopie-Aufnahmen, welche eine Überlagerung aller Kanäle darstellen, zeigen eine hohe Übereinstimmung der mitochondrialen Internalisierung der beiden Si-Rhodamine **103a** und **103b** mit dem literaturbekannten Mitotracker® Green FM. Daraus lässt sich eine hohe mitochondriale Anreicherung der Si-Rhodamine feststellen. Um den Grad der Übereinstimmung der Si-Rhodamine **103a** und **103b** und des Mitotracker® Green FM zu beschreiben, wurde der Pearson-Korrelationskoeffizient für beide Si-Rhodamine bestimmt.

Demnach konnte für **103a** ein Wert von 0.79 ± 0.03 ($n=16$) und für **103b** eine Pearson-Korrelation von 0.75 ± 0.04 ($n=12$) bestimmt werden. Diese hohen Übereinstimmungswerte sprechen für eine hochgradige Anreicherung der Si-Rhodamine **103a** und **103b** in den Mitochondrien.

Die hohe Anreicherung von Si-Rhodaminen in Mitochondrien kann beispielsweise zur Bildgebung des Herzmuskels genutzt werden, da die Zellen der Herzmuskeln die höchste Dichte an Mitochondrien besitzen.^[312] Allerdings müssen hierzu weitere Kontrollexperimente, wie beispielsweise die mitochondriale Aufnahme in anderen Zelllinien oder auch die Affinitäten der Si-Rhodamine zu anderen Zellorganellen (z.B. Lysosomen) durchgeführt werden, um den Einsatz der Si-Rhodamine als Perfusionsmarker zu verifizieren.

3.4.2 Die Kupfer-vermittelte Radioiodierung von Si-Rhodamin 100a

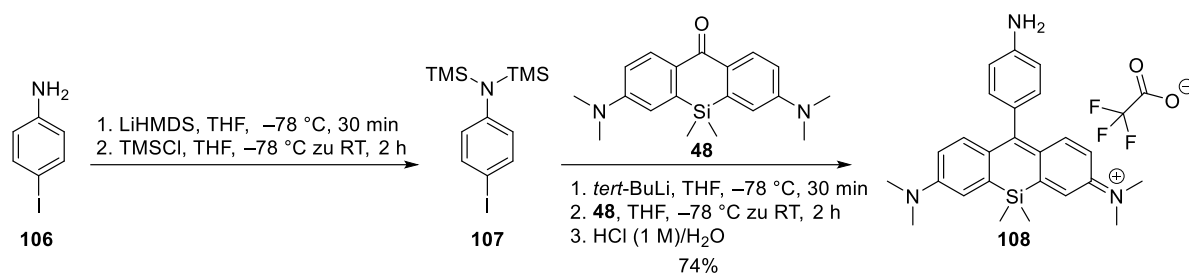
Im nächsten Schritt wurde die Radioiodierung des Si-Rhodamins **100a**, welcher für die Radiofluorierung genutzt wurde, mit dem SPECT-Radionuklid Iod-123 untersucht. Aus der Literatur ist bekannt, dass neben der Kupfer-vermittelten Radiofluorierung auch die Kupfer-vermittelte Radioiodierung von Arylboronsäuren möglich ist.^[313-317] Die Radioiodierung von Boronsäure-funktionalisierten aromatischen Verbindungen ist besonders attraktiv, da für die Radiomarkierung unterschiedliche Radioisotope des Iods mit verschiedenen Anwendungsmöglichkeiten genutzt werden können. Somit können prominente Isotopologe des Iods für verschiedene nuklearmedizinische Anwendungen wie Iod-123 ($t_{1/2}=13.2$ h) für die SPECT-Bildgebung, Iod 124 ($t_{1/2}=4.2$ d) für die PET-Bildgebung, Iod-125 ($t_{1/2}=59.4$ d) als Auger-Emitter und für die Radionuklidtherapie das Iod-131 ($t_{1/2}=8.0$ d) verwendet werden.^[313] Eine erfolgreiche Radioiodierung des Boronsäure-funktionalisierten Si-Rhodamins **100a** gewährleistet, dass mithilfe eines einzigen und identischen Vorläufers Radiomarkierungen sowohl mit Fluor-18 als auch mit den Radioisotopen des Iods möglich sind. So können zur Analyse von kurzen biologischen Prozessen Radiofluorierungen und für längere biologische Prozesse Radioiodierungen (z.B. mit Iod-123) in Betracht gezogen werden. Außerdem bietet sich hier die Anwendung von PET und SPECT an, je nachdem, ob mit Fluor-18 oder Iod-123 markiert wird.

Bevor die Radioiodierungsexperimente durchgeführt werden konnten, musste vorher die nicht-radioaktive Referenzsubstanz synthetisiert werden, um mithilfe der Radio-HPLC eine potentielle Radioiodierung von **100a** mit Iod-123 nachzuweisen.

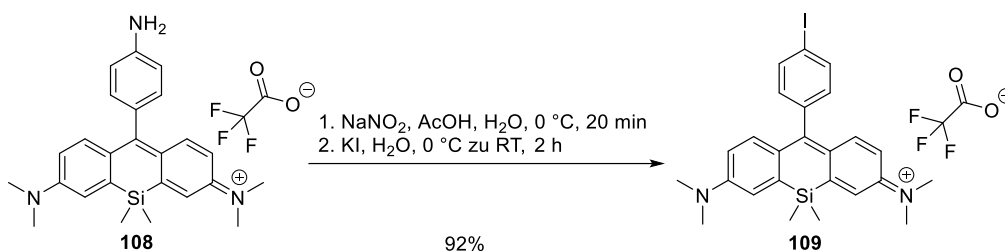
Die Synthesestrategie zur Herstellung des nicht-radioaktiven und iodierten Si-Rhodamins **109** ist in Schema 27 gezeigt

3. Ergebnisse und Diskussion

a) Synthese eines Amin-funktionalisierten Si-Rhodamins **108**



b) Synthese eines iodierten Si-Rhodamins **109** als Referenzsubstanz



Schema 27: Die dreistufige Synthese der nicht-radioaktiven und iodierten Referenzsubstanz **109**.

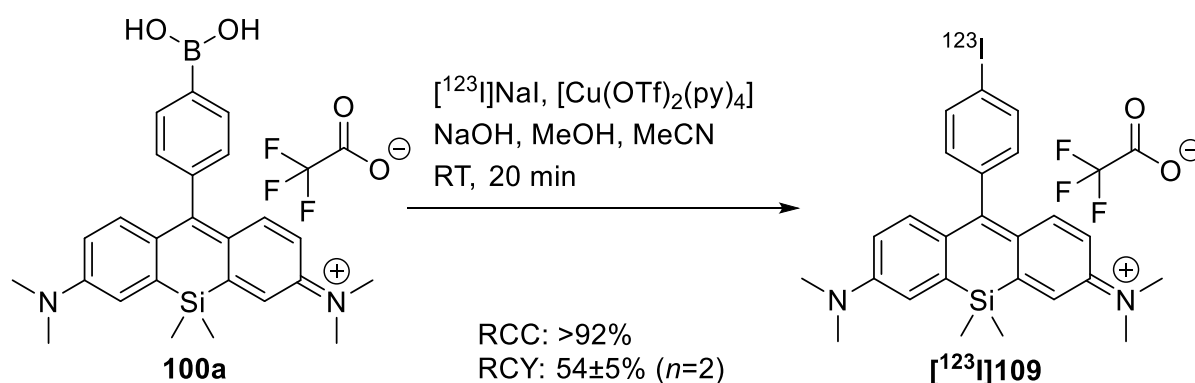
a) Die zweistufige Synthese eines Amin-funktionalisierten Si-Rhodamins **108**, ausgehend vom kommerziell erhältlichen 4-Iodoanilin **106**. b) Die Umsetzung des Amin-funktionalisierten Si-Rhodamins **108** in einer Sandmeyer-ähnlichen Reaktion zum iodierten Si-Rhodamin **109**.

Zunächst wurde ein Amin-funktionalisiertes Si-Rhodamin **108** synthetisiert, welches in einer Folgereaktion zum gewünschten iodierten Si-Rhodamin **109** weiterumgesetzt wurde.

Das Amin-funktionalisierte Si-Rhodamin **108** konnte, ausgehend vom kommerziell erhältlichen 4-Iodoanilin **106** synthetisiert werden. Demnach wurde die primäre Aminogruppe des 4-Iodoanilins **106** zunächst mit TMS-Gruppen geschützt, indem das Anilin **106** durch LiHMDS bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ deprotoniert und anschließend mit Trimethylsilylchlorid behandelt wurde. Das in situ gebildete TMS-geschützte Anilin **107** wurde ohne weitere Aufreinigung im nächsten Schritt mit *tert*-Butyllithium (zwei Äquivalente) versetzt, um einen Lithium-Halogenid-Austausch zu erreichen. Das in situ gebildete lithiierte Organyl wurde schließlich mit dem Si-Xanthon **48** bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ umgesetzt. Nach der nukleophilen Addition des Lithiumorganyls an das Si-Xanthon **48** und der anschließenden Eliminierungsreaktion nach Zugabe einer wässrigen Salzsäurelösung (1 M) wurde das Rohprodukt **108** nach säulenchromatographischer Reinigung (DCM/MeOH 99:1 zu 88:12 auf Kieselgel) gefolgt von einer HPLC-Aufreinigung (10–90% MeCN/H₂O, linearer Gradient in 35 Minuten, mit 0.1% v/v TFA als Additiv, System 2) mit einer chemischen Ausbeute von 74% erhalten (Schema 27a). Anschließend wurde das Si-Rhodamin **108** in einer Sandmeyer-ähnlichen Reaktion, über ein mit Natriumnitrit in situ erzeugtes und reaktives Diazoniumsalz und der anschließenden Zugabe von Kaliumiodid, zum iodierten Si-Rhodamin **109** umgesetzt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (DCM/MeOH 99:1 zu 95:5 auf Kieselgel) gefolgt von einer HPLC-Aufreinigung (30–90% MeCN/H₂O, linearer Gradient in 35 Minuten, mit 0.1% v/v

TFA als Additiv, *System 2*) wurde **109** mit einer sehr guten chemischen Ausbeute von 92% erhalten (Schema 27b). Die erfolgreiche Darstellung von **109** wurde anhand der ^1H -, ^{13}C -, ^{19}F -NMR-Spektroskopie und HR-ESI-Spektrometrie mit einem $m/z=511.1066$ (berechnet: $m/z=511.1061$) für das Moleküllion $[\text{M}]^+$ bestätigt.

Die Bestimmung der Absorptions- und Emissionseigenschaften von **109** wurde analog zu den vorherigen Si-Rhodaminen aus Kapitel 3.4.1 durchgeführt, um einen direkten Vergleich zum fluorierten Si-Rhodamin-Analogon **103a** zu ziehen. In PBS ($\text{pH}=7.4$) zeigt **109** ein Absorptionsmaximum bei 648 nm (bzw. 663 nm in DMSO) und ein Emissionsmaximum bei 667 nm (681 nm). Folglich ähneln die Absorptions- und Emissionseigenschaften denen des fluorierten Strukturanalogons **103a** (Absorptionsmaximum in PBS ($\text{pH}=7.4$): 649 nm; Emissionsmaximum in PBS ($\text{pH}=7.4$): 665 nm). Diese Beobachtungen zeigen, dass die Auswirkungen zwischen dem stark elektronegativen Fluor und dem Iod in Position 4, relativ zum Xanthen-Grundgerüst, eher gering zueinander sind. Der molare Absorptionskoeffizient von **109** in PBS ($\text{pH}=7.4$) ergab einen Wert von $41.100 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ und zeigt somit einen niedrigeren Wert im Vergleich zu dem Si-Rhodamin **103a** (in PBS ($\text{pH}=7.4$): $\epsilon_{\text{max}}=88.700 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). Dies ist möglicherweise auf die höhere Lipophilie von **109** im Vergleich zu **103a** und der damit einhergehenden erhöhten Neigung zur Aggregation in wässriger Umgebung zurückzuführen. Die experimentell bestimmte Quantenausbeute von **109** in PBS ($\text{pH}=7.4$; $\Phi_{\text{F}}=0.135$) unterscheidet sich nur geringfügig zu **103a** (in PBS ($\text{pH}=7.4$); $\Phi_{\text{F}}=0.115$). Im nächsten Schritt wurde die Kupfer-vermittelte Radioiodierung des Vorläufers **100a** durchgeführt (Schema 28). Die Bedingungen der Kupfer-vermittelten Radioiodierung wurden auf Basis der Radioiodierung des 2- ^{123}I Iodophenylacetyl-Transglutaminase-2 Inhibitors aus der Literatur durchgeführt (Schema 28).^[318]



Schema 28: Die Kupfer-vermittelte Radioiodierung des Si-Rhodamins **100a** zur Synthese von ^{123}I **109**. Die Reaktion wurde in einer Lösung aus ^{123}I NaI in Natronlauge (0.02 M), Methanol und Acetonitril mit dem Kupfer(II)-Komplex $[\text{Cu}(\text{OTf})_2(\text{py})_4]$ für 20 Minuten bei Raumtemperatur durchgeführt.

Demnach wurde die Kupfer-vermittelte Radioiodierung von **100a** mit dem selben Kupfer(II)-Komplex ($[\text{Cu}(\text{OTf})_2(\text{py})_4]$) durchgeführt, welcher für die Radiofluorierungen genutzt wurde. Der Vorläufer **100a** (ein Äquivalent) wurde in Acetonitril gelöst und mit dem Kupfer-Komplex (fünf Äquivalente), welcher in Methanol gelöst war, zusammengegeben. Anschließend wurde die Reaktionsmischung zum radioaktiven $^{123}\text{I}]\text{NaI}$ in Natriumhydroxid-Lösung dazugegeben. Nach 20 Minuten bei Raumtemperatur wurden analytische Radio-HPLC-Messungen durchgeführt. Die Analysen der Radio-HPLC ergaben in der Kupfer-vermittelten Radioiodierung stets radiochemische Umsetzungen über 92%. Folglich können im Vergleich zu den Kupfer-vermittelten Radiofluorierungen für die Kupfer-vermittelten Radioiodierungen von **100a** unter Raumtemperaturbedingungen und in wässriger Lösung höhere radiochemische Umsetzungen erreicht werden. Dies ist sicherlich auf die allgemein höhere Reaktivität des Iodids im Vergleich zum Fluorid zurückzuführen.

Nach semi-präparativer Reinigung von $^{123}\text{I}]\mathbf{109}$ (25–75% MeCN/H₂O, linearer Gradient in 33 Minuten, mit 0.1% v/v TFA als Additiv, *System 6*), SPE-Aufreinigung (durch Elution von der C₁₈-Kartusche mit Acetonitril und 0.1% TFA als Additiv) und Entfernung des Lösungsmittels bei 80 °C konnte $^{123}\text{I}]\mathbf{109}$ mit einer radiochemischen Ausbeute von $54 \pm 5\%$ ($n=2$) erhalten werden.

In Abbildung 19 sind die Radio-HPLC-Chromatogramme von $^{123}\text{I}]\mathbf{109}$ (Abbildung 19a) und der nicht-radioaktiven Referenzsubstanz **109** gezeigt (Abbildung 19b), welche zur radioaktiven Verbindung als Additiv dazugegeben wurde. Die ähnlichen Retentionszeiten beider Si-Rhodamine zeigen die erfolgreiche Synthese von $^{123}\text{I}]\mathbf{109}$.

Des Weiteren wurde in den durchgeführten Radioiodierungsexperimenten eine gewisse Instabilität von $^{123}\text{I}]\mathbf{109}$ festgestellt, da die radiochemische Reinheit des finalen Produkts zwischen 82% und 96% variiert. Hierbei zeigten Radio-HPLC-Messungen nach jedem Aufreinigungsschritt (nach Radio-HPLC-Aufreinigung, nach SPE-Aufreinigung mithilfe einer C₁₈-Kartusche und nach finaler Eindampfung bei 70 °C unter vermindertem Druck), dass vor allem nach Entfernung des Lösungsmittels (Acetonitril mit 0.1% TFA als Additiv) bei 70 °C die radiochemische Reinheit abnahm, während sie in den vorherigen Aufreinigungsschritten bei über 95% lag. Diese Beobachtung zeigt eine Instabilität von $^{123}\text{I}]\mathbf{109}$ bei höheren Temperaturen, welche zudem auch durch das Aufkonzentrieren des TFA begünstigt werden kann. Jedoch wurde festgestellt, dass die Nutzung von Trifluoressigsäure als Additiv notwendig ist, da ohne den Zusatz von TFA keine Elution von der C₁₈-Kartusche beobachtet wurde. Nach Eindampfung des Acetonitrils (0.1% TFA als Additiv) bei einer niedrigeren Temperatur von 50 °C, ergab sich sogar eine höhere radiochemische Reinheit des $^{123}\text{I}]\mathbf{109}$ von 92%. Somit ist von einer temperaturabhängigen Instabilität von $^{123}\text{I}]\mathbf{109}$ auszugehen.

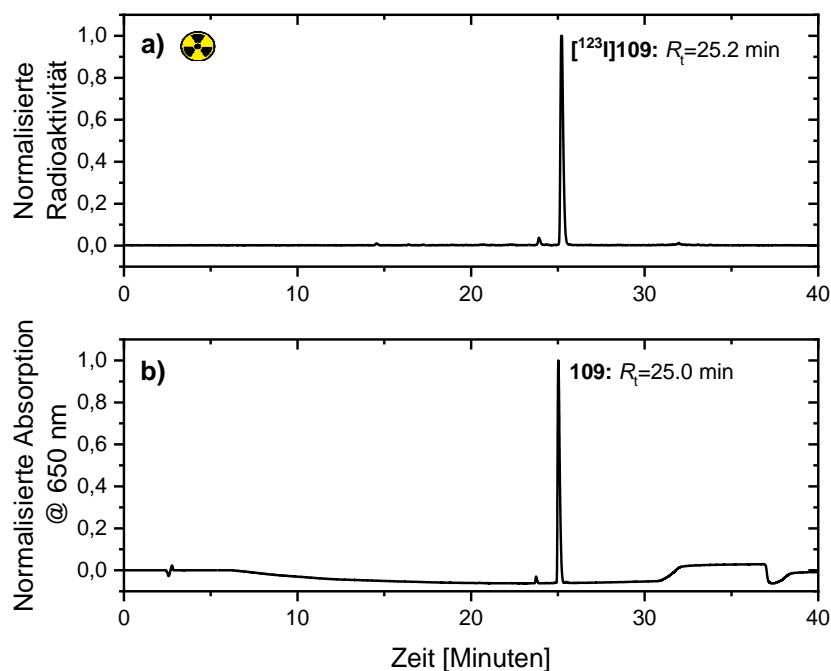


Abbildung 19: Identitätsnachweis von $[^{123}\text{I}]\mathbf{109}$. Überblick der normalisierten Radio-HPLC-Chromatogramme a) von $[^{123}\text{I}]\mathbf{109}$ [γ -Detektion, Zählrate] mit $R_t=25.2$ Minuten und b) $\mathbf{109}$ als nicht-radioaktive Referenzsubstanz [UV-Detektion, 650 nm] mit $R_t=25.0$ Minuten. Methode: 25–75% MeCN/H₂O+0.1% v/v TFA als Additiv, linearer Gradient in 28 Minuten, System 7.

Im Vergleich zu $[^{18}\text{F}]\mathbf{103a}$ kann aufgrund des unpolaren Iods in $[^{123}\text{I}]\mathbf{109}$ von einer höheren Lipophilie ausgegangen werden. Die Ermittlung des Verteilungskoeffizienten von $[^{123}\text{I}]\mathbf{109}$ (RCP: >96%) ergab einen $\log D_{\text{pH}=7.4}=3.48\pm 0.29$ und bestätigt die Annahme der höheren Lipophilie im Vergleich zu $[^{18}\text{F}]\mathbf{103a}$ ($\log D_{\text{pH}=7.4}=2.92\pm 0.32$).

Im nächsten Schritt wurde analog der Bestimmung der molaren Aktivitäten der radiofluorierten Si-Rhodamine $[^{18}\text{F}]\mathbf{103a}$ und $[^{18}\text{F}]\mathbf{103b}$ die molare Aktivität von $[^{123}\text{I}]\mathbf{109}$ ermittelt. Es konnte für $[^{123}\text{I}]\mathbf{109}$ eine molare Aktivität von $A_m=7.64\pm 0.27 \text{ TBq}/\mu\text{mol}$ ($n=4$), ausgehend von einer radioaktiven Startaktivität von 180 MBq, bestimmt werden. Dieser Wert stellt somit die höchste molare Aktivität eines radiomarkierten NIR-Fluoreszenzfarbstoffs dar und besitzt folglich das Hundertfache der molaren Aktivität des radiofluorierten Si-Rhodamins $[^{18}\text{F}]\mathbf{103a}$ ($A_m=70.1\pm 3.2 \text{ GBq}/\mu\text{mol}$). Hohe molare Aktivitäten im Terabecquerel-Bereich versprechen für künftige biokonjugierbare und tumoraffine Si-Rhodamine ein hohes Signal-zu-Rausch-Verhältnis bei SPECT-Aufnahmen.^[306]

Die Kupfer-vermittelten Radioiodierungen zeigen, neben den radiofluorierten Si-Rhodaminen $[^{18}\text{F}]\mathbf{103a}$ und $[^{18}\text{F}]\mathbf{103b}$, interessante Eigenschaften für die Biokonjugation der Si-Rhodamine mit verschiedenen (Tumor-)Targetvektoren zur selektiven Anreicherung in (Tumor-)Gewebe.

3.5 Die Synthese von biokonjugierbaren Si-Rhodaminen zur Radiomarkierung

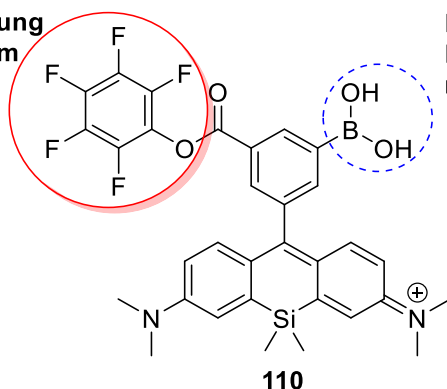
3.5.1. Die Herstellung von biokonjugierbaren Si-Rhodaminen zur Kupfer-vermittelten Radiofluorierung

In diesem Teil der Arbeit lag der Fokus auf der Synthese von biokonjugierbaren Si-Rhodaminen, welche zunächst mit Fluor-18 markiert werden sollten.

Da die bisher synthetisierten und mit Technetium-99m, Fluor-18 und Iod-123 radiomarkierten einfachen Si-Rhodamine $^{99m}\text{Tc-78}$, $^{18}\text{F}103\text{a}$, $^{18}\text{F}103\text{b}$ und $^{123}\text{I}109$ keine Target-Einheiten zur selektiven Anreicherung an Tumorgewebe besitzen, wurde nun versucht zusätzliche Carbonsäure-Gruppen als funktionelle Gruppe in das Rhodamin-Grundgerüst einzuführen. Der radiomarkierte Farbstoff fungiert dann als prosthetische Gruppe und kann somit durch eine aktive Kupplung an Target-Vektoren, wie beispielsweise an einen PSMA-Inhibitor, eine selektive Anreicherung im jeweiligen Tumorgewebe erzielen. Die Einführung polarer Gruppen wie Carbonsäuren, aber auch die Kupplung an Targetvektoren, tragen zusätzlich zur Erhöhung der Hydrophilie der Si-Rhodamine bei, sodass die ermittelte hohe Lipophilie der radiofluorierten und unspezifischen Si-Rhodamine hierdurch kompensiert werden kann.

Die Resultate der Radiofluorierung unterschiedlicher Regioisomere der Si-Rhodamine aus Kapitel 3.4.1 zeigten deutlich, dass nur die *meta*- und *para*-Positionen relativ zum Xanthen-Grundgerüst, radiomarkiert werden können. Aus diesem Grund wurde zunächst ein Carbonsäure-funktionalisiertes Si-Rhodamin entwickelt, welches eine *meta*-ständige Boronsäure relativ zum Xanthen-Grundgerüst besitzt. Demnach dient die Boronsäure zur Kupfer-vermittelten Radiomarkierung. Zusätzlich wurde eine Carbonsäure in *meta*-Position eingeführt, um eine Kupplung an Targetvektoren unter Bildung einer Carbonsäureamidbindung zu erreichen. Hierzu ist in Abbildung 20 die chemische Strukturformel des beschriebenen Si-Rhodamins als Zielmolekül gezeigt. Dabei wurde die Carbonsäure zu einem sogenannten Aktivester, in Form eines Pentafluorophenylesters (PFP) umfunktionalisiert, um die Kupplung an primäre Amine von Targetvektoren zu erleichtern.

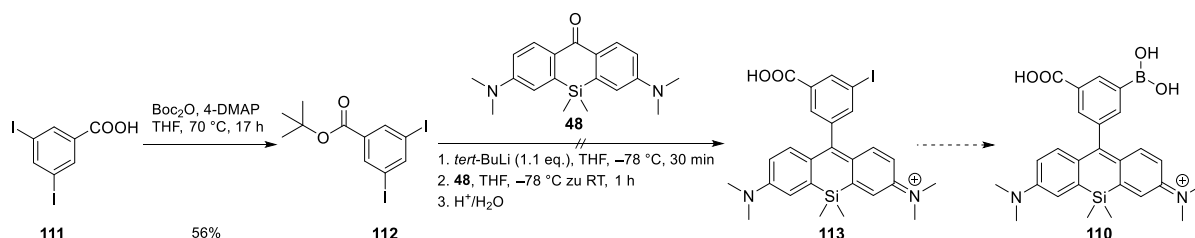
PFP-Aktivester zur Kupplung an Targetvektoren wie dem PSMA-1007 Bindungsmotiv



Freie Boronsäure zur Radiomarkierung mit Fluor-18 und Iod-123

Abbildung 20: Chemische Strukturformel eines Pentafluorophenyl(PFP)-funktionalisierten Si-Rhodamins **110**, welches nach Radiomarkierung als prosthetische Gruppe an primäre Amine von klinisch relevanten Targetvektoren geknüpft werden kann.

Da bisher noch keine Carbonsäure- und Boronsäure-funktionalisierten Si-Rhodamine bekannt sind, wurden unterschiedliche Syntheserouten entwickelt, um Si-Rhodamin **110** zu synthetisieren. In Schema 29 ist eine mögliche Syntheseroute zur Darstellung eines solchen Si-Rhodamin **110** gezeigt. Hierbei sollte ein Carbonsäure- und Iod-funktionalisiertes Si-Rhodamin **113** dargestellt werden, welches in einer Folgereaktion unter literaturbekannten Bedingungen zum entsprechenden Carbonsäure- und Boronsäure-funktionalisierten Si-Rhodamin **110** umgesetzt werden soll.^[319] Anschließend kann die Carbonsäure von **110** in einen Aktivester überführt werden.



Schema 29: Versuch zur Darstellung des Carbonsäure- und Boronsäure-funktionalisierten Si-Rhodamins **110**, ausgehend von der kommerziell erhältlichen 3,5-Diiodbenzoesäure **111**.

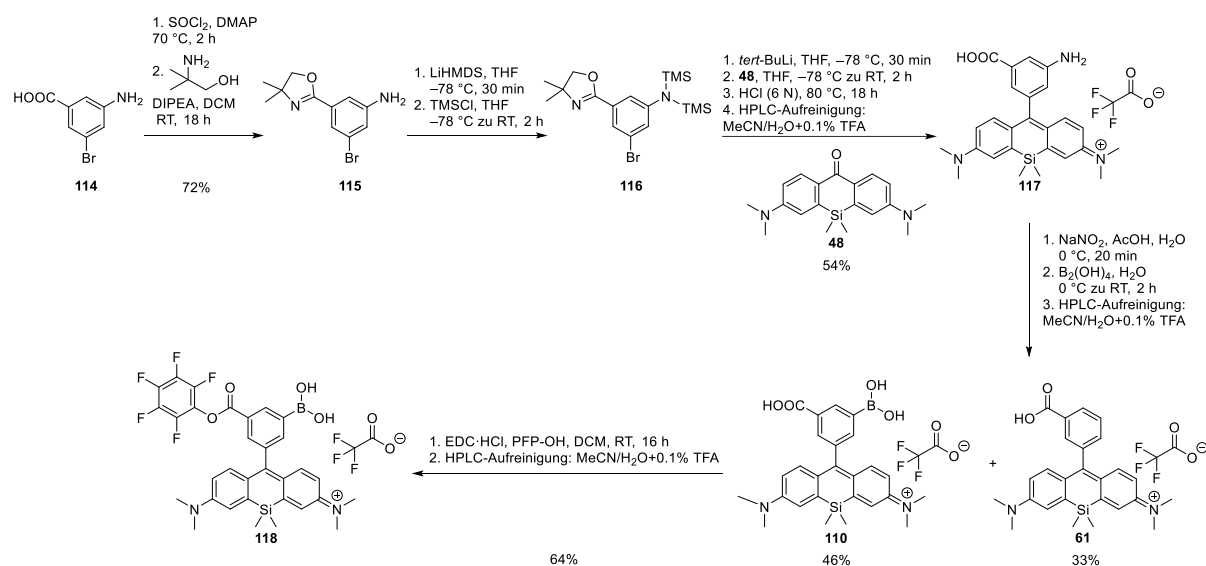
Zunächst wurde die Carbonsäure der kommerziell erhältlichen 3,5-Diiodbenzoesäure **111** mit einer *tert*-Butylgruppe versehen, um diese vor dem nachfolgenden Lithium-Halogen-Austausch zu schützen.^[320] Dabei wurde **112** mit Pyrokohlensäuredi-*tert*-butylester (Boc_2O ; 2.5 Äquivalenten) und mit katalytischen Mengen an *N,N*-(4-Dimethylamino)-pyridin (4-DMAP, 0.1 Äquivalente) in THF auf 70 °C erwärmt und für 17 Stunden gerührt. Nach wässriger Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (*n*-Hexan/Ethylacetat 99:1 zu 95:5 auf Kieselgel) wurde **112** mit einer chemischen Ausbeute von 56% erhalten.

3. Ergebnisse und Diskussion

Anschließend sollte **112** mit *tert*-Butyllithium (1.10 Äquivalente) in einer Halogen-Iod-Austauschreaktion in THF unter Sauerstoffausschluss und bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ mono-lithiiert werden. Um eine einfache Lithiierung zu erreichen, wurden nicht mehr als 1.1 Äquivalente des *tert*-Butyllithiums verwendet. Nach Zugabe des Si-Xanthons **48** bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ und nachfolgender saurer Aufarbeitung konnte **113** jedoch nicht erhalten werden. Dies ist wohlmöglich aufgrund des Vorhandenseins des zweiten Iodatoms zurückzuführen, welches ebenfalls lithiiert werden kann und folglich zu weiteren Nebenreaktionen führt.

Da **110** mittels der Syntheseroute in Schema 29 nicht synthetisiert werden konnte, wurde eine alternative Herstellungsmethode für **110** entwickelt.

In Schema 30 ist eine weitere Syntheseroute zur Darstellung des Carbonsäure- und Boronsäure-funktionalisierten Si-Rhodamins **110** aufgezeigt.



Schema 30: Fünfstufige Syntheseroute zur Darstellung des Carbonsäure- und Boronsäure-funktionalisierten Si-Rhodamins **118**, ausgehend von der kommerziell erhältlichen 3-Amino-5-brombenzoesäure **114**. Diese Syntheseroute lieferte **118** mit einer Gesamtausbeute von 11%.

Zur Synthese von **114** wurde zuerst die Carbonsäure der kommerziell erhältlichen 3-Amino-5-brombenzoesäure (**114**) nach Lukinavičius *et al.* zum 4,4-Dimethyl-4,5-dihydrooxazol funktionalisiert und geschützt.^[153] Die Derivatisierung der Carbonsäure als 1,3-Oxazolin-Gruppe sollte vor unerwünschten Nebenreaktionen in der bevorstehenden Lithium-Halogen-Austauschreaktion schützen. Diese Reaktion erfolgte in einer Zweischnitt-Synthese mit der Aktivierung der Carbonsäure mit Thionylchlorid und der anschließenden Umsetzung des Säurechlorids mit 2-Amino-2-methylpropan-1-ol zum entsprechenden Carbonsäureamid. Das Rohprodukt des resultierenden Carbonsäureamids wurde ohne weitere Reinigung mit Thionylchlorid bei Raumtemperatur zum entsprechenden 4,4-Dimethyl-4,5-dihydrooxazol-

funktionalisierten **115** zyklisiert. Das 1,3-Oxazolin **115** wurde nach säulenchromatographischer Reinigung (DCM/MeOH 99:1 zu 97:3 auf Kieselgel) mit einer Ausbeute von 72% hergestellt. Die erfolgreiche Synthese wurde mithilfe der ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektroskopie nachgewiesen. Das primäre Amin von **115** wurde im nächsten Schritt nach Shieh *et al.* mit TMS-Gruppen geschützt, um die Nucleophilie des freienamins zu senken und somit Nebenreaktionen im nachfolgenden Lithium-Brom-Halogen austausch zu vermeiden.^[200] Hierbei wurde **115** unter Schlenk-Bedingungen mit LiHMDS (2.1 Äquivalente) bei $-78\text{ }^\circ\text{C}$ deprotoniert und ebenfalls bei $-78\text{ }^\circ\text{C}$ mit TMS-Cl (2.1 Äquivalente) umgesetzt. Anschließend wurde die Reaktionslösung zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. So wurde das TMS-geschützte Amin **116** erhalten. **116** wurde, ohne weitere Aufreinigungen, mit den bereits beschriebenen Bedingungen lithiiert und mit dem Si-Xanthon **48** umgesetzt. Nach wässrig-saurer Aufarbeitung wurde die 1,3-Oxazolin-Schutzgruppe mit einer salzsauren Lösung (6 M) bei $80\text{ }^\circ\text{C}$ nach 18 Stunden abgespalten. Es wurde festgestellt, dass diese drastischen Bedingungen keine Hinweise auf eine etwaige Instabilität des Si-Rhodamins **117** liefern. Somit kann davon ausgegangen werden, dass das Si-Rhodamin-Gerüst von **117** über eine längere Zeit eine hohe Stabilität gegenüber starken Säuren und hohen Temperaturen aufweist. Aufgrund der hohen Polarität von **117** wurde auf eine säulenchromatographische Reinigung verzichtet und das Rohprodukt mithilfe der HPLC aufgereinigt. Nach HPLC-Reinigung (10–90% MeCN/H₂O, linearer Gradient in 35 Minuten, mit 0.1% v/v TFA als Additiv, System 2) konnte **117** analysenrein aufgereinigt werden. Die erfolgreiche Synthese von **117** wurde anhand von ^1H -, ^{13}C -, ^{19}F -Spektroskopie und der ESI-HR-MS mit $m/z=444.2102$ für das Molekülion $[\text{M}]^+$ (berechnet: $m/z=444.2102$) bestätigt.

Im nächsten Schritt wurde das Amin-funktionalisierte Si-Rhodamin **117** nach einer abgewandelten Vorschrift von Zhao *et al.* in ein Boronsäure-funktionalisiertes Si-Rhodamin **110** umgesetzt.^[321] Demnach wurde **117** in einer Mischung aus Essigsäure und Wasser (Verhältnis: 3:1) bei $0\text{ }^\circ\text{C}$ gelöst und mit Natriumnitrit (1.5 Äquivalente) zum Diazoniumsalz umgesetzt. Zur dunkelblauen Lösung wurde nach einer Reaktionszeit von 20 Minuten eine Lösung von Tetrahydroxydiboron ($\text{B}_2(\text{OH})_4$) in Wasser dazugegeben. Die Reaktionslösung wurde nun auf Raumtemperatur gebracht und dann für zwei Stunden gerührt. Nach wässriger Aufarbeitung erfolgte eine HPLC-Aufreinigung (10–90% MeCN/H₂O, linearer Gradient in 35 Minuten, mit 0.1% v/v TFA als Additiv, System 2) des Rohprodukts. Nach der HPLC-Aufreinigung wurde **110** als Hauptprodukt mit einer chemischen Ausbeute von 47% erhalten. Zusätzlich wurde **61** als Nebenprodukt der Reaktion mit einer Ausbeute von 33% erhalten. Die Bildung des Nebenprodukts ist möglicherweise auf eine säurekatalysierte Protodeborylierung von **110** in saurer Umgebung zurückzuführen. Die Zersetzung von Arylboronsäuren und Arylboronsäurepinakolestern bei sauren Bedingungen ist bereits bekannt und wurde in zahlreichen Publikationen beschrieben.^[298, 322-323]

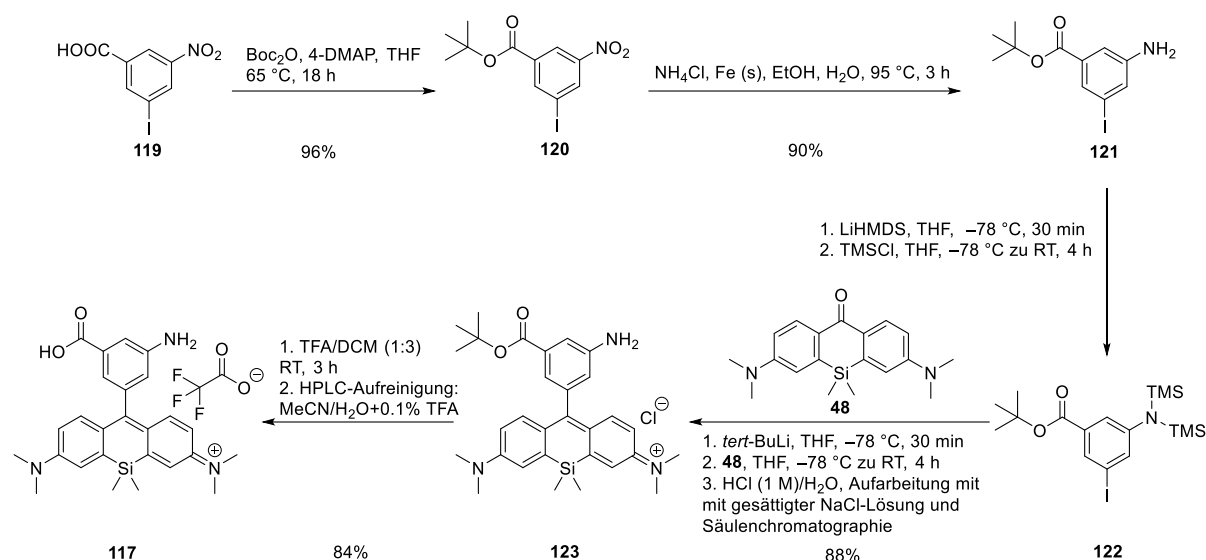
Das literaturunbekannte Boronsäure-funktionalisierte Si-Rhodamin **110** wurde mittels ^1H -, ^{11}B -, ^{13}C -NMR-Spektroskopie charakterisiert. Außerdem wurde das Gegenion mithilfe der ^{19}F -NMR-Spektroskopie als Trifluoracetat nachgewiesen.

Im nächsten Schritt wurde die Carbonsäure des Si-Rhodamins **110** zu einem Pentafluorophenyl-Aktivester umgesetzt, um die Ausbildung eines entsprechenden Carbonsäureamids in Reaktionen mit primären Aminen von Targetvektoren zu erleichtern. Die Versuchsvorschrift wurde basierend auf Arbeiten von Olberg *et al.* zur Synthese von Tetrafluorophenyl-Aktivestern durchgeführt.^[324] Hierbei ist anzumerken, dass anstelle des Tetrafluorophenyl-Aktivesters ein Pentafluorophenyl-Aktivester synthetisiert wurde, da letzterer Ester als bessere Abgangsgruppe eine höhere Reaktivität mit primären Aminen verspricht als Tetrafluorophenyl-Aktivester.

Die Synthese des PFP-Aktivesters **118**, welcher als Vorläufer für die Fluor-18-Radiomarkierung genutzt werden sollte, erfolgte bei Raumtemperatur mit dem Hydrochlorid des 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimids (EDC·HCl) und Pentafluorophenol in DCM und einer Reaktionszeit von 16 Stunden. Nach wässriger Aufarbeitung und anschließender HPLC-Aufreinigung (30–90% MeCN/H₂O, linearer Gradient in 35 Minuten, mit 0.1% v/v TFA als Additiv, System 2) wurde **118** als Trifluoracetat-Salz mit einer Ausbeute von 64% erhalten. Es ließ sich feststellen, dass die sauren Bedingungen der HPLC-Aufreinigung (0.1% v/v TFA als Additiv) nicht zu einer Hydrolyse des Aktivesters zur freien Carbonsäure führte. **118** wurde mittels ^1H -, ^{11}B -, ^{13}C - und ^{19}F -NMR-Spektroskopie charakterisiert. So zeigte das ^{11}B -NMR-Spektrum die charakteristische chemische Verschiebung des Bors bei $\delta=28.4$ ppm und das ^{19}F -NMR-Spektrum die entsprechenden drei chemisch nicht äquivalenten Signale der fünf Fluoratome des PFP-Aktivesters und zudem auch das ^{19}F -NMR-Signal des Trifluoracetats als Gegenion (δ (ppm)=-77.3 (CF₃COO⁻), -155.5, -160.9, -165.5). Des Weiteren zeigte **118** in der HR-ESI-MS eindeutig das Basissignal des Moleküliions [M]⁺ mit $m/z=639.1904$ (berechnet: $m/z=639.1905$).

Die ermittelte chemische Ausbeute für die gesamte Syntheseroute, welche fünf Reaktionsschritte umfasst, betrug lediglich 11%. Da die Gesamtausbeute aus diesem Grund verhältnismäßig gering ausfällt, wurde eine weitere Syntheseroute entwickelt, um die Gesamtausbeute der Syntheseroute zu erhöhen. In Schema 31 ist die Synthese des Amin-funktionalisierten Si-Rhodamins **117** gezeigt.

3. Ergebnisse und Diskussion



Schema 31: Optimierte Syntheseroute zur Darstellung des Carbonsäure- und Amin-funktionalisierten Si-Rhodamins **117**, ausgehend von der kommerziell erhältlichen 3-Iod-5-Nitrobenzoesäure **119**.

Demnach wurde zuerst die Carbonsäure der kommerziell erhältlichen 3-Iod-5-nitrobenzoesäure **119** mit einer *tert*-Butylgruppe geschützt. Dabei erfolgte die Synthese von **120** unter den bereits bekannten Bedingungen mit Boc_2O (3 Äquivalente) und mit katalytischen Mengen an 4-DMAP (0.24 Äquivalente) in THF.^[320] Die Reaktionslösung wurde auf 65 °C erwärmt und für 18 Stunden gerührt. Nach wässriger Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (*n*-Hexan/Ethylacetat 99:1 zu 95:5 auf Kieselgel) wurde die *tert*-Butyl-3-Iod-5-Nitrobenzoesäure (**120**) mit einer sehr guten chemischen Ausbeute von 96% erhalten.

Im nächsten Schritt erfolgte die katalytische Reduktion der Nitrogruppe von **120** nach Barton *et al.* durch elementares Eisen und Ammoniumchlorid als Protonendonator in einer Ethanol-Wasser-Mischlösung (Verhältnis: 1:1) bei 95 °C.^[325] Nach vollständigem Umsatz (laut DC: *n*-Hexan/Ethylacetat 9:1) erfolgte die wässrige Aufarbeitung, gefolgt von der säulenchromatographischen Reinigung (*n*-Hexan/Ethylacetat 9:1 zu 6:4 auf Kieselgel), um *tert*-Butyl-3-Amino-5-Iodbenzoesäure (**121**) im Grammmaßstab mit einer chemischen Ausbeute von 90% zu erhalten.

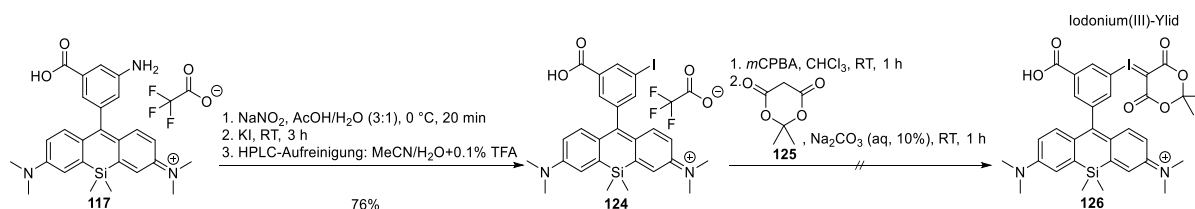
Nun wurden die Aminogruppen unter ähnlichen Bedingungen wie für **117** (Schema 30) mit TMS-Gruppen geschützt und somit für den nachfolgenden Lithium-Iod-Austausch vorbereitet.^[200] Nach erfolgtem Schützen der Aminogruppen wurde **122** in einer nukleophilen Additions- und anschließenden Eliminierungsreaktion, welche unter salzsauren Bedingungen stattfand, zum Si-Rhodamin **123** umgesetzt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (DCM/MeOH 99:1 zu 92:8 auf Kieselgel) wurde **123** mit einer chemischen Ausbeute von 88% analysenrein erhalten, sodass keine HPLC-Aufreinigung mehr notwendig war. Danach wurde

3. Ergebnisse und Diskussion

die *tert*-Butylgruppe von **123** in einer Mischung aus TFA:DCM (Verhältnis: 1:3) säurevermittelt abgespalten und das Rohprodukt **117** mithilfe der HPLC aufgereinigt (10–90% MeCN/H₂O, linearer Gradient in 35 Minuten, mit 0.1% v/v TFA als Additiv, *System 2*). Nach HPLC-Aufreinigung wurde **117** mit einer chemischen Ausbeute von 84% als dunkelblauer Feststoff erhalten. Diese Syntheseroute beinhaltet mit sieben Reaktionsschritten zwei Syntheseschritte mehr als die Synthese des PFP-Ester-funktionalisierten Si-Rhodamins aus Schema 30. Dennoch führt diese Route zu einer Gesamtausbeute von 19% des für die Radiomarkierung benötigten Vorläufers **118** mit höherer chemischer Reinheit der Zwischenprodukte, sodass die Route effizienter ist.

Neben **118** als Vorläufer für die Kupfer-vermittelte Radiomarkierung sollte ein weiterer geeigneter Vorläufer zur kupferfreien Radiofluorierung synthetisiert werden. Aus diesem Grund ist die Wahl auf sogenannte Iodonium(III)-Ylide gefallen. Iodonium-Ylide eignen sich ebenfalls für die nukleophile aromatische Radiofluorierung von elektronenreichen Aromaten und versprechen zudem hohe radiochemische Ausbeuten.^[326-329] Im Gegensatz zu den Kupfer-vermittelten Radiofluorierungen ist die Radiofluorierung von Iodonium-Yliden dagegen metallfrei. Zudem verspricht die Synthese von Iodonium-Yliden hohe chemische Ausbeuten aber auch eine relativ hohe Stabilität der Vorläufer unter Umgebungsbedingungen.^[328]

In Schema 32 ist der Versuch zur Synthese eines Iodonium-Ylids dargestellt.

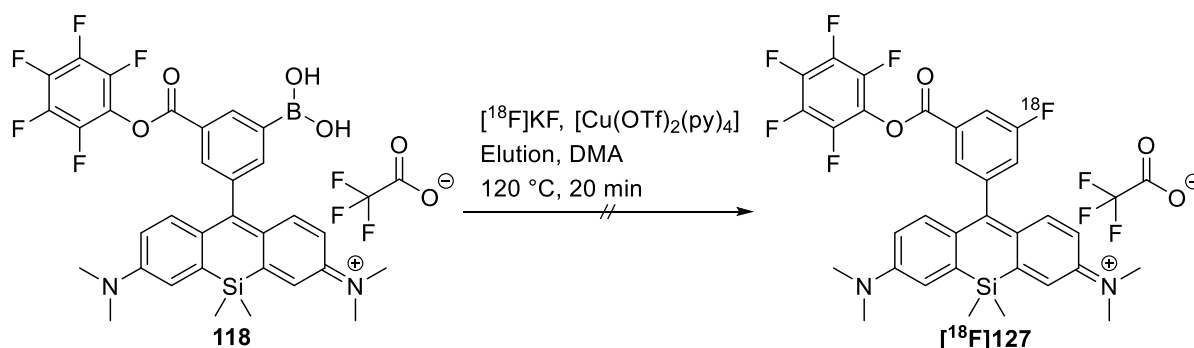


Schema 32: Versuch einer zweistufigen Synthese eines Iodonium(III)-Ylid-funktionalisierten Si-Rhodamins **126** als Vorläufer für die Radiofluorierung ausgehend von Si-Rhodamin **117**.

Zuerst wurde das Amin-funktionalisierte Si-Rhodamin **117** in einer Sandmeyer-ähnlichen Reaktion zum entsprechenden iodierten Si-Rhodamin **124** umgesetzt. Hierbei wurde zunächst in einer essigsäuren Lösung mit Natriumnitrit in situ das reaktive Diazoniumsalz gebildet und mit Kaliumiodid weiter zu **124** umgesetzt. Nach wässriger Aufarbeitung wurde eine HPLC-Aufreinigung (30–90% MeCN/H₂O, linearer Gradient in 35 Minuten, mit 0.1% v/v TFA als Additiv, *System 2*) durchgeführt, um **124** analysenrein mit einer guten chemischen Ausbeute von 76% als Trifluoracetat-Salz zu erhalten. Das Si-Rhodamin **124** wurde mithilfe von ¹H-, ¹³C- und ¹⁹F-NMR-Spektroskopie identifiziert und besitzt für das Molekülion [M]⁺ ein Basissignal von *m/z*=555.0960 (berechnet: *m/z*=555.0960) in der HR-ESI-MS.

Anschließend galt es das iodierte Si-Rhodamin **124** nach einer Versuchsvorschrift von Rotstein *et al.*, anhand eines geeigneten Oxidationsmittels, zur hypervalenten Iod(III)-Spezies zu oxidieren, welche schließlich mit der Meldrumsäure **125** zu einem Iodonium-Ylid reagiert.^[326] Als Oxidationsmittel wurde *meta*-Chlorperbenzoesäure (mCPBA) gewählt und die Reaktion in Chloroform bei Raumtemperatur durchgeführt. Innerhalb einer Stunde nach Zugabe von mCPBA (ein Äquivalent) konnte anhand der DC (DCM/MeOH 9:1) zwar eine vollständige Umsetzung des Si-Rhodamins **124** festgestellt werden, jedoch auch eine vollständige Entfärbung der vorher stark blauen Reaktionslösung. Nach Zugabe der Meldrumsäure **125** (1.5 Äquivalente) in einer 10%igen wässrigen Natriumcarbonat-Lösung und einer Reaktionszeit von einer weiteren Stunde bei Raumtemperatur wurde die Reaktionslösung wässrig aufgearbeitet. Nach Aufarbeitung blieb ein farbloser Rückstand zurück, welcher laut ¹H-NMR-Spektroskopie keine Produktsignale zeigte. Zudem konnte in der HR-ESI-MS (positiver Modus) kein Molekülion zum Produkt zugeordnet werden. Das Entfärben der Reaktionslösung ist möglicherweise auf die photobleichende Eigenschaft des mCPBA als starkes Oxidationsmittel zurückzuführen. Aus zeitlichen Gründen wurde dieser Ansatz nicht weiter verfolgt.

Im Folgenden wurden Versuche zur Kupfer-vermittelten Radiofluorierung von **118** mit der optimierten Radiofluorierungsmethode aus **3.4** untersucht (Schema 33)



Schema 33: Die Kupfer-vermittelte Radiomarkierung des Boronsäure-funktionalisierten Vorläufers **118** mit Fluor-18 über 20 Minuten bei 120 °C in DMA. Dabei wurden unterschiedliche Elutionsmethoden untersucht.

In Tabelle 17 sind die gewählten Bedingungen der durchgeführten Kupfer-vermittelten Radiofluorierung von **118** aufgelistet.

Tabelle 17: Die Kupfer-vermittelte Radiomarkierung des Boronsäure-funktionalisierten Vorläufers **118** mit Fluor-18 bei 120 °C in DMA (Reaktionszeit: 20 Minuten). Dabei wurden unterschiedliche Elutionsmethoden untersucht.

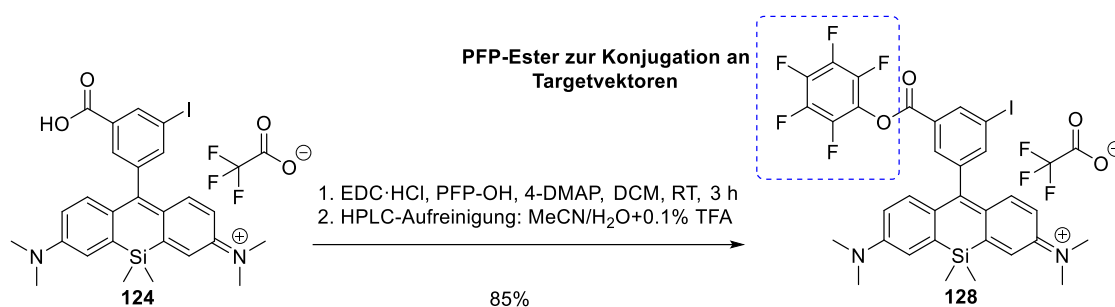
Lösungsmittel	Elution	Reaktionsbedingungen	Vorläufer 118 (μmol)	[Cu] (μmol)	RCC
DMA	KOTf/K ₂ CO ₃	20 min, 120 °C	0.40	1.60	k.U.
DMA	DMAPH ⁺ OTf	20 min, 120 °C	0.40	1.60	k.U.
DMA	<i>n</i> -BuOH/ TEAHCO ₃	20 min, 120 °C	0.40	1.60	k.U.

Die Radiofluorierungen von **118** wurden mit verschiedenen Elutionslösungen, analog zur Radiofluorierung der einfachen Si-Rhodamine **100a–100c**, mit azeotroper Trocknung (Elution: mit KOTf-Lösung aus H₂O/MeCN) und ohne azeotrope Trocknung (Elution mit DMAPH⁺OTf oder *n*-BuOH/TBAHCO₃) in DMA für 20 Minuten bei 120 °C durchgeführt. Dabei wurden die Radiomarkierungen im Stoffmengenverhältnis 1:4 (Vorläufer:[Cu(OTf)₂(py)₄]) untersucht. Anhand von Tabelle 17 lässt sich erkennen, dass die durchgeführten Kupfer-vermittelten Radiomarkierungsstrategien unter diesen Bedingungen keinen Erfolg bei der Radiofluorierung von **118** erbrachten. Hierbei können sterische aber auch elektronische Aspekte die Radiomarkierung von **118** verhindern. Zwar wird dem PFP-Ester eine hohe Stabilität gegenüber hohen Temperaturen zugesprochen, aber dennoch kann eine Abspaltung des PFP-Aktivesters bei 120 °C und in DMA zur Bildung der freien Carbonsäure als Hydrolyseprodukt führen, sodass hierdurch die Radiofluorierung erschwert wird.^[210, 330-331]

Aus diesen Gründen ist es ausschlaggebend, an welchen Positionen die freie Boronsäure und die biokonjugierbare Carbonsäure am Aromaten positioniert werden. Folglich müssen andere Derivate des biokonjugierbaren Si-Rhodamins synthetisiert und untersucht werden, um höhere radiochemische Umsetzungen in der Kupfer-vermittelten Radiofluorierung zu erhalten.

3.5.1. Die Herstellung von biokonjugierbaren Si-Rhodaminen zur Kupfer-vermittelten Radioiodierung

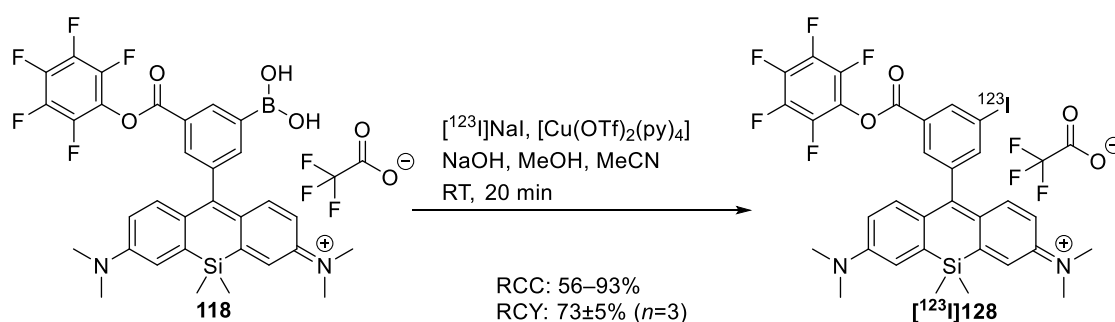
Da die Kupfer-vermittelten Radiofluorierungsstrategien für **118** keine erfolgreichen radiochemischen Umsetzungen zeigten, lag der Fokus im Folgenden auf der Kupfer-vermittelten Radioiodierung von **118** mit Iod-123. Die Experimente zur Radiomarkierung mit Iod-123 aus **3.4.2** zeigten, dass die Kupfer-vermittelten Radioiodierungen bei Raumtemperatur und mit relativ kurzen Reaktionszeiten (<20 Minuten) durchgeführt werden können. Zudem konnten mit dieser Methode hohe radiochemische Umsetzungen aber auch molare Aktivitäten im Terabecquerel-Bereich pro Mikromol erhalten werden. Bevor die Kupfer-vermittelten Radioiodierungen vom Vorläufer durchgeführt wurden, wurde zunächst die entsprechende nicht-radioaktive Referenzsubstanz **128** synthetisiert (Schema 34).



Schema 34: Die Synthese der nicht-radioaktiven Referenzsubstanz **128**, ausgehend vom Si-Rhodamin **124**.

Demnach wurde das Si-Rhodamin **124** mit EDC·HCl und Pentafluorophenol für drei Stunden bei Raumtemperatur in DCM gerührt. Nach wässriger Aufarbeitung und anschließender HPLC-Aufreinigung (30–90% MeCN/H₂O, linearer Gradient in 35 Minuten, mit 0.1% v/v TFA als Additiv, *System 2*) wurde **128** als Trifluoracetat-Salz mit einer guten Ausbeute von 85% erhalten. Die erfolgreiche Synthese von **128** wurde mittels ¹H- und ¹³C-NMR-Spektroskopie bestätigt. Außerdem zeigte das ¹⁹F-NMR-Spektrum die charakteristischen Signale der drei chemisch nicht äquivalenten Fluoratome des PFP-Esters und auch das spezifische Signal der drei chemisch äquivalenten Fluoratome des Trifluoracetats als Gegenion des kationischen Si-Rhodamins **128**. Das HR-ESI-MS zeigte ein Basissignal von $m/z=721.0801$ für das Molekülion [M]⁺ (berechnet: $m/z=721.0802$).

Im nächsten Schritt wurde die Kupfer-vermittelte Radioiodierung von **118** untersucht. Die Radioiodierung wurde mit dem Kupfer(II)-Komplex [Cu(OTf)₂(py)₄] durchgeführt. Analog zu den Bedingungen aus Kapitel 3.4.2 wurde der Vorläufer **118** (ein Äquivalent) in Acetonitril gelöst und mit dem Kupfer-Komplex [Cu(OTf)₂(py)₄] (fünf Äquivalente) zusammengegeben, welcher in Methanol gelöst war. Anschließend wurde die Reaktionsmischung zum radioaktiven [¹²³I]NaI in Natriumhydroxid-Lösung dazugegeben und der Vorläufer für 20 Minuten bei Raumtemperatur umgesetzt (Schema 35).



Schema 35: Die Kupfer-vermittelte Radioiodierung des Si-Rhodamins **118** zur Synthese von [¹²³I]**128**. Die Reaktion wurde in einer Lösung aus [¹²³I]NaI in Natronlauge (0.02 M), Methanol und Acetonitril mit dem Kupfer(II)-Komplex [Cu(OTf)₂(py)₄] für 20 Minuten bei Raumtemperatur durchgeführt.

3. Ergebnisse und Diskussion

Die gezeigten Bedingungen aus Schema 35 lieferten radiochemische Umsetzungen zwischen 56% und 93% in Abhängigkeit des Gehaltes an wässriger [¹²³I]NaI-Lösung in NaOH (0.02 M). In Tabelle 18 sind die Ergebnisse der Untersuchungen der Radioiodierung von **118** in Abhängigkeit verschiedener wässriger Anteile an radioaktivem [¹²³I]Natriumiodid in wässriger Natriumhydroxid-Lösung (0.02 M) gezeigt.

Tabelle 18: Abhängigkeit der Kupfer-vermittelten Radioiodierung von **118** vom wässrigen Anteil der Reaktionslösung. Der Wasseranteil der Reaktionslösungen betrug zwischen 2% und 10%. Die radiochemischen Umsetzungen wurden mithilfe der Radio-UHPLC ermittelt (Methode: 25–75% MeCN/H₂O+0.1% v/v TFA als Additiv, linearer Gradient in 4.0 Minuten, System 7).

Reaktionsvolumen	Verhältnis Vorläufer:[Cu]	Anteil von 0.02 M NaOH-Lösung im Reaktionsansatz	Radiochemischer Umsatz zu [¹²³ I] 128 (laut Radio-HPLC)
50 µL	1:5	2%	93%
		4%	71%
		6%	74%
		8%	77%
		10%	56%

Es wurde festgestellt, dass durch Steigerung des Anteils an wässriger Natriumhydroxid-Lösung (0.02 M) in Relation zum Gesamtvolumen (50 µL) niedrigere radiochemische Umsetzungen erhalten wurden. Aus diesem Grund wurde für die Radiosynthese die Zugabe an [¹²³I]NaI in NaOH-Lösung (0.02 M) zwischen 2% und 5% begrenzt. Die Abnahme der radiochemischen Umsetzung kann auf die unzureichende Löslichkeit des Vorläufers in wässriger Lösung oder einer zunehmenden Neigung zur Protodeborylierung von [¹²³I]**128** zurückzuführen sein.

Die radiochemische Ausbeute für die Umsetzung des Vorläufers **118** betrug 73±5% (*n*=3), nach SPE-Aufreinigung und anschließender Elution mit einer Lösung aus Acetonitril (+0.1% TFA) und Entfernung des Lösungsmittels bei 70 °C, unter vermindertem Druck. Dabei lagen die Startaktivitäten zwischen 115 MBq und 280 MBq [¹²³I]NaI. Alternativ führte die Radioiodierung nach semi-präparativer Radio-HPLC-Aufreinigung (45–95% MeCN/H₂O, linearer Gradient in 35 Minuten, mit 0.1% v/v Trifluoressigsäure (TFA) als Additiv) mit anschließender SPE-Aufreinigung, Elution und Trocknung lediglich zur einer radiochemischen Ausbeute von 31% (*n*=1).

In Abbildung 21 sind die Chromatogramme des Radio-HPLC aufgereinigten Si-Rhodamins [¹²³I]**128** und des entsprechenden nicht-radioaktiven Si-Rhodamins **128** gezeigt.

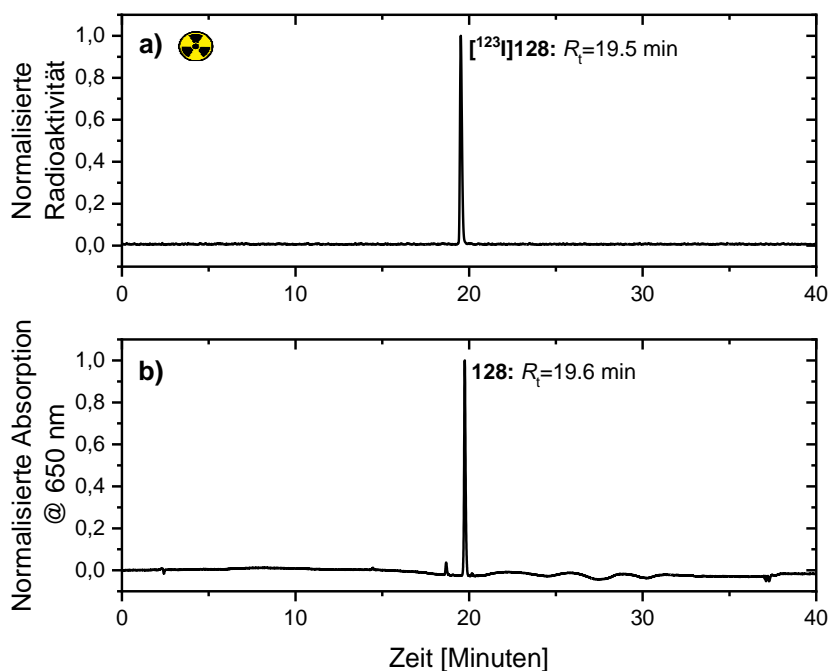


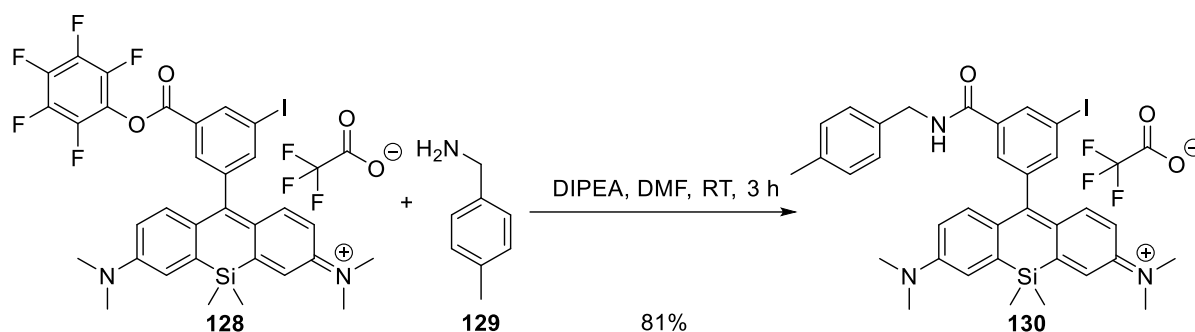
Abbildung 21: Identitätsnachweis von $[^{123}\text{I}]\mathbf{128}$. Überblick der normalisierten Radio-HPLC-Chromatogramme a) von $[^{123}\text{I}]\mathbf{128}$ [γ -Detektion, Zählrate] mit $R_t = 19.5$ Minuten und b) $\mathbf{128}$ als nicht-radioaktive Referenzsubstanz [UV-Detektion, 650 nm] mit $R_t = 19.6$ Minuten. Methode: 45–95% MeCN/H₂O+0.1% v/v TFA als Additiv, linearer Gradient in 28 Minuten, System 7.

Die normalisierten HPLC-Chromatogramme vom radiochemisch reinen $[^{123}\text{I}]\mathbf{128}$ ($[^{123}\text{I}]\mathbf{128}$: $R_t = 19.5$ Minuten) und der nicht-radioaktiven Referenz $\mathbf{128}$ (Absorption bei 650 nm; $R_t = 19.6$ Minuten) besitzen ähnliche Retentionszeiten. Diese Feststellung weist auf die erfolgreiche Synthese und Existenz des radioiodierten Si-Rhodamins $[^{123}\text{I}]\mathbf{128}$ hin.

Da die Synthese von $[^{123}\text{I}]\mathbf{128}$ mit hoher radiochemischer Ausbeute erfolgte, wurden im Folgenden diverse primäre Amine ausgewählt, um mit dem PFP-Ester-funktionalisierten Si-Rhodamin $[^{123}\text{I}]\mathbf{128}$ die entsprechenden radiomarkierten Carbonsäureamide zu synthetisieren.

Zunächst wurde als Modellverbindung das primäre Amin 4-Methylbenzylamin ($\mathbf{129}$) ausgewählt, um eine mögliche Konjugation des primären Amins mit $[^{123}\text{I}]\mathbf{128}$ zu erzielen und die Bedingungen für künftige Konjugationen mit primären Aminen von biologischen Targetvektoren (z.B. PSMA-1007-Bindungsvektor) zu optimieren. Zusätzlich wurde die dazugehörige nicht-radioaktive Referenzsubstanz $\mathbf{130}$ hergestellt. In Schema 36 ist die Konjugation von 4-Methylbenzylamin ($\mathbf{129}$; zwei Äquivalente) und der nicht-radioaktiven Referenzsubstanz $\mathbf{128}$ zum Carbonsäureamid $\mathbf{130}$ in DMF und der sterisch gehinderten Base DIPEA (vier Äquivalente) gezeigt. Die Konjugation fand bei Raumtemperatur mit einer Reaktionszeit von drei Stunden statt.

3. Ergebnisse und Diskussion



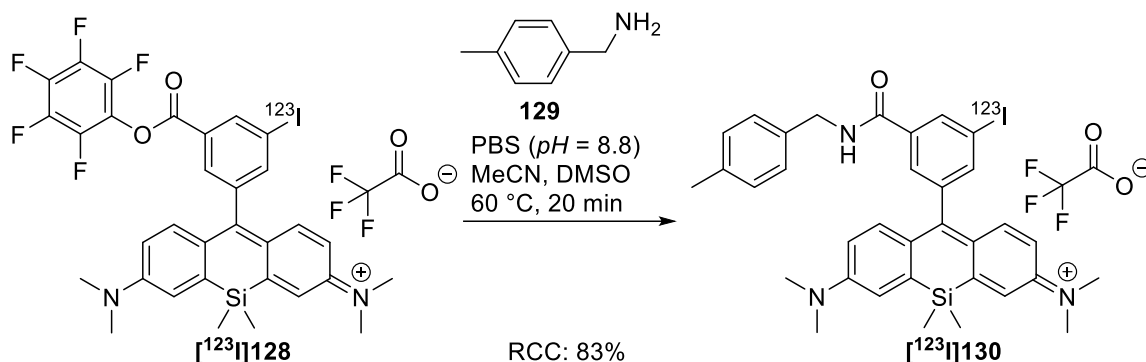
Schema 36: Die Umsetzung des PFP-funktionalisierten Si-Rhodamins **128** mit dem primären 4-Methylbenzylamin (**129**) zum entsprechenden Carbonsäureamid **130**.

Die erfolgreiche Synthese von **130** erfolgte nach HPLC-Aufreinigung (10–90% MeCN/H₂O, linearer Gradient in 35 Minuten, mit 0.1% v/v TFA als Additiv, *System 2*) mit einer chemischen Ausbeute von 81%. Die Synthese konnte sowohl durch Überprüfung des Integralverhältnisses der Signale im ¹H-NMR-Spektrum als auch durch die Zahl der Signale im ¹³C-NMR-Spektrum bestätigt werden. Laut ¹⁹F-NMR-Spektrum konnte als Gegenion das Trifluoacetat nachgewiesen werden. Ein HR-MALDI-MS-Experiment (Matrix: DCTB: *trans*-2-[3-(4-*tert*-Butylphenyl)-2-methyl-2-propenyliden]-malonsäuredinitril) zeigte das Molekülion [M]⁺ bei $m/z=658.1745$ (berechnet: $m/z=658.1746$).

Die Auswertung des UV-Vis-NIR-Spektrums von **130** in PBS ($pH=7.4$) zeigte ein Absorptionsmaximum bei einer Wellenlänge von 652 nm und einem Emissionsmaximum bei 670 nm. Somit zeigen die Absorptions- und Emissionseigenschaften Ähnlichkeiten zu den bereits vorgestellten Si-Rhodaminen. Außerdem zeigt das UV-Vis-NIR-Spektrum, dass die Carbonsäureamid-Verknüpfung am Si-Rhodamin keinen signifikanten Einfluss auf die optischen Eigenschaften besitzt. Zwar konnte in PBS ein hoher Wert für die Quantenausbeute von 10% ermittelt werden, jedoch ist der molare Absorptionskoeffizient mit lediglich 21.600 M⁻¹cm⁻¹ vergleichsweise gering.

Nun wurde die prosthetische Gruppe [¹²³I]**128** mit dem primären Amin **129** umgesetzt (Schema 37).

Im Unterschied zu den vorherigen Bedingungen der Konjugation des nicht-radioaktiven Si-Rhodamins **130** wurde die Radiomarkierung in einer wässrigen Lösung aus PBS ($pH=8.8$), Acetonitril und DMSO für 20 Minuten bei 60 °C durchgeführt.



Schema 37: Die erfolgreiche Umsetzung des radiomarkierten Si-Rhodamins $[^{123}\text{I}]\mathbf{128}$ als prosthetische Gruppe mit dem primären Amin 4-Methylbenzylamin (**129**) in einer Lösung aus PBS ($\text{pH}=8.8$), Acetonitril und DMSO für 20 Minuten bei $60\text{ }^\circ\text{C}$ zu $[^{123}\text{I}]\mathbf{130}$. Die radiochemische Umsetzung betrug 83%.

In Abbildung 22 sind die normalisierten HPLC-Chromatogramme des radioaktiven Si-Rhodamins $[^{123}\text{I}]\mathbf{130}$ als Rohprodukt und ohne weitere Aufreinigung (oben) und zum Vergleich das HPLC-Chromatogramm des chemisch reinen und nicht-radioaktiven Si-Rhodamins **130** (unten) gezeigt.

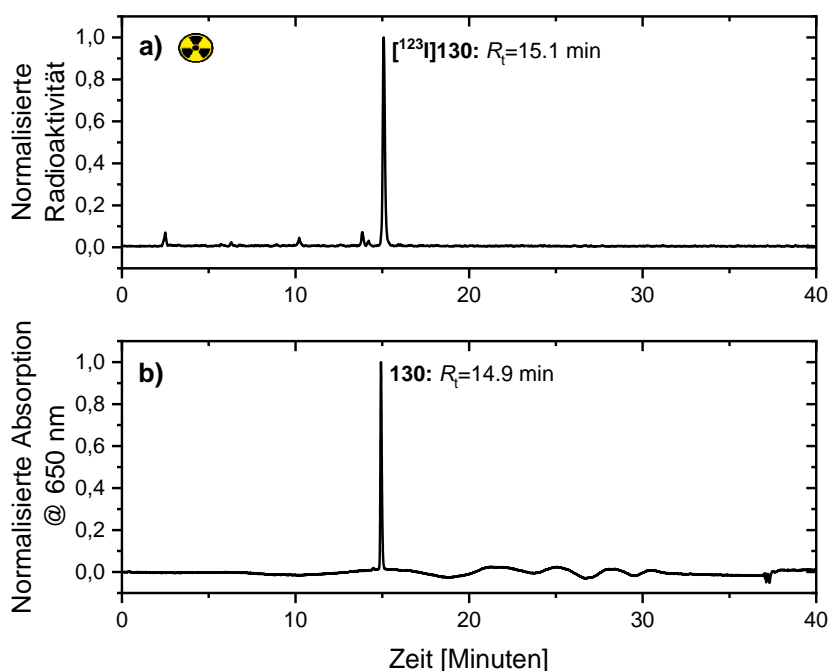


Abbildung 22: Identitätsnachweis von $[^{123}\text{I}]\mathbf{130}$. Überblick der normalisierten Radio-HPLC-Chromatogramme a) von $[^{123}\text{I}]\mathbf{130}$ [γ -Detektion, Zählrate] mit $R_t=15.1$ Minuten und b) **130** als nicht-radioaktive Referenzsubstanz [UV-Detektion, 650 nm] mit $R_t=14.9$ Minuten. Methode: 45–95% MeCN/ $\text{H}_2\text{O}+0.1\%$ v/v TFA als Additiv, linearer Gradient in 28 Minuten, System 7.

Die Chromatogramme zeigen, dass die Retentionszeiten von [¹²³I]**130** mit $R_t=15.1$ Minuten (Abbildung 22a) und **130** mit $R_t=14.9$ Minuten (Abbildung 22b) miteinander korrelieren, sodass von einer erfolgreichen Konjugation des Vorläufers [¹²³I]**128** mit dem primären Amin **129** ausgegangen werden kann. Die radiochemische Umsetzung dieser Reaktion von [¹²³I]**128** zu [¹²³I]**130** betrug 83%, sodass eine fast vollständige Umsetzung in relativ kurzer Zeit (20 Minuten) unter Bildung weniger Nebenprodukte stattfand. Da diese Radiomarkierung als Modellreaktion zur Konjugation vom Si-Rhodamin [¹²³I]**128** mit primären Aminen diente, wurden keine weiteren Experimente mit [¹²³I]**130** durchgeführt.

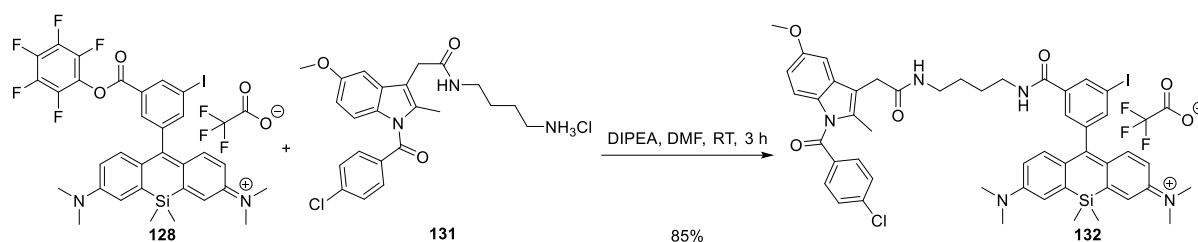
Da die Konjugation des Si-Rhodamins [¹²³I]**128** mit dem primären Amin **129** erfolgreich war, wurde im nächsten Schritt eine Bikonjugation von [¹²³I]**128** mit dem Hydrochlorid eines Indomethacin-Derivats, genauer dem Indomethacin-4-aminobutyl-1-amid **131**, durchgeführt.^{4,[332]} Indomethacin-Derivate gelten als unspezifische Inhibitoren der Cyclooxygenase-1 (COX-1) und Cyclooxygenase (COX-2). Dabei handelt es sich bei Cyclooxygenasen um Enzyme, welche für die Regulation des Prostaglandin-Haushaltes zuständig sind und somit an der Prostaglandin-Synthese durch die Oxidation von Arachidonsäure beteiligt sind. Prostaglandine sind wichtige biologische Vermittler in Entzündungskrankheiten.^[333] Während COX-1 als konstitutives Enzym überwiegend zur Biosynthese von zellschützenden Prostaglandinen in der Magenschleimhaut und der Niere zuständig ist, wird COX-2 in Entzündungen oder Wunden ebenso hochreguliert. Zudem deutet eine Überexpression von COX-2 auf Tumorgenese und Tumorwachstum hin. Aus diesem Grund stellt COX-2 als adressierbares Target eine wichtige Rolle in der Behandlung von verschiedenen Krebsarten da.^[334-335]

Durch Derivatisierung des unspezifischen Indomethacins kann eine hohe Selektivität zu COX-2 erzielt werden, sodass die Derivate des Indomethacins als selektive COX-2-Inhibitoren wirken. Aus diesem Grund wurden ab 2013 von Uddin *et al.* unterschiedliche Indomethacin-Derivate an zahlreichen organischen Fluoreszenzfarbstoffen (z.B. Rhodamine, Coumarine oder auch Cyaninfarbstoffe) gebunden und anschließend biologisch evaluiert. Einige dieser Farbstoffkonjugate zeigen eine hohe Selektivität für COX-2 im Vergleich zur Isoform COX-1.^[334-336]

Um eine selektive COX-2-Inhibition von radioiodierten Indomethacin-Si-Rhodamin-Konjugaten zu erzielen, wurde der PFP-Ester **128** mit dem Hydrochlorid des Indomethacin-4-aminobutyl-1-amid **131** konjugiert (Schema 38).

⁴ Das Hydrochlorid des Indomethacin-Derivats **132** wurde freundlicherweise von Dr. Markus Laube (Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf, Institut für Radiopharmazeutische Krebsforschung, Abteilung Radiopharmazeutische und Chemische Biologie) für die weitere Synthese zur Verfügung gestellt.

3. Ergebnisse und Diskussion



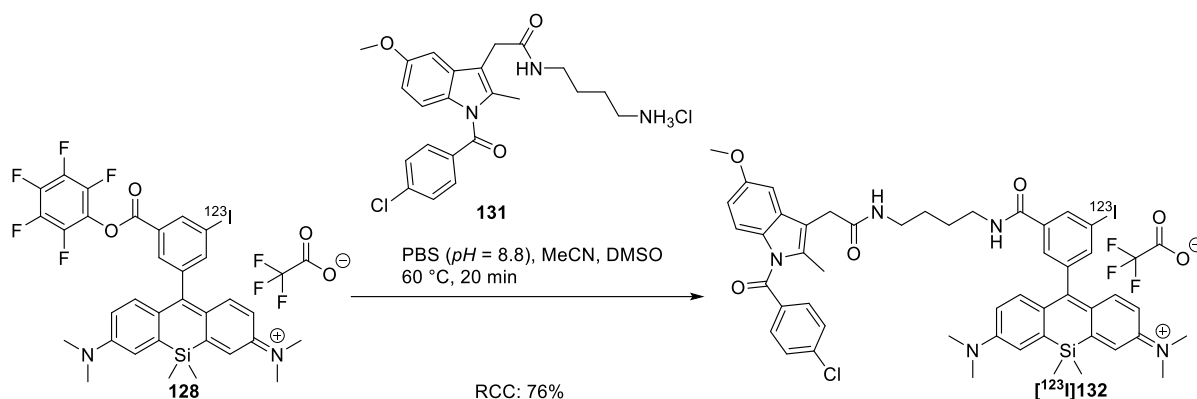
Schema 38: Die Umsetzung des PFP-funktionalisierten Si-Rhodamins **128** mit dem freien primären Amin des Indomethacin-4-aminobutyl-1-amids **131** zum entsprechenden Indomethacin-funktionalisierten Carbonsäureamid **132**.

Die Konjugation wurde mit den bereits verwendeten Bedingungen mit DIPEA (vier Äquivalente) als Base in DMF für drei Stunden bei Raumtemperatur durchgeführt. Nach anschließender HPLC-Aufreinigung (10–90% MeCN/H₂O, linearer Gradient in 35 Minuten, mit 0.1% v/v TFA als Additiv, *System 2*) wurde das Indomethacin-funktionalisierte Si-Rhodamin **132**, als nicht-radioaktive Referenzsubstanz, mit einer chemischen Ausbeute von 85% als blauer Feststoff erhalten. Die erfolgreiche Synthese des Si-Rhodamin-Biokonjugats **132** konnte sowohl durch Überprüfung des Integralverhältnisses der Signale im ¹H-NMR-Spektrum als auch durch die vollständige Anzahl der Signale im ¹³C-NMR-Spektrum bestätigt werden. Mithilfe des ¹⁹F-NMR-Spektrums konnte als Gegenion das Trifluoracetat nachgewiesen werden. Außerdem zeigen sowohl HR-ESI-MS-Experimente als auch HR-MALDI-MS-Experimente (Matrix: DCTB) das Molekülion [M]⁺ mit $m/z=964.2519$ (HR-ESI-MS) und $m/z=964.2532$ (HR-MALDI-MS) mit passendem Masse-zu-Ladung-Verhältnis (berechnet: $m/z=964.2517$). Das UV-Vis-NIR-Spektrum des nicht-radioaktiven Si-Rhodamins **132** zeigt in PBS ($pH=7.4$) ein minimal bathochrom verschobenes Absorptions- und Emissionsspektrum mit einem Absorptionsmaximum bei 659 nm und einem Emissionsmaximum bei 675 nm. Die Quantenausbeute des Konjugats **132** liegt in PBS lediglich bei 3%, sodass die Konjugation des Indomethacins an das Si-Rhodamin-Gerüst mit einem Verlust der Fluoreszenz einhergeht.

Die Konjugation des radioiodierten Si-Rhodamins [¹²³I]**128** mit Indomethacin-4-aminobutyl-1-amid **131** erfolgte im nächsten Schritt (Schema 39).

In einem ersten Initialversuch wurde das radioiodierte Si-Rhodamin [¹²³I]**132** analog zu den Bedingungen der Synthese von [¹²³I]**130** hergestellt. Demnach fand die Biokonjugation, unter leicht basischen Bedingungen mit PBS ($pH=8.8$), in Acetonitril und DMSO statt.

3. Ergebnisse und Diskussion



Schema 39: Die erfolgreiche Umsetzung des radiomarkierten Si-Rhodamins $[^{123}\text{I}]\mathbf{128}$ als prosthetische Gruppe mit dem primären Amin des Indomethacin-4-aminobutyl-1-amid $\mathbf{131}$ in einer Lösung aus PBS ($\text{pH}=8.8$), Acetonitril und DMSO für 20 Minuten bei $60\text{ }^\circ\text{C}$. Die radiochemische Umsetzung betrug 76%.

Nach einer Reaktionszeit von 20 Minuten bei $60\text{ }^\circ\text{C}$ wurde eine Radio-HPLC-Messung des Rohprodukts von $[^{123}\text{I}]\mathbf{132}$ durchgeführt (Abbildung 23).

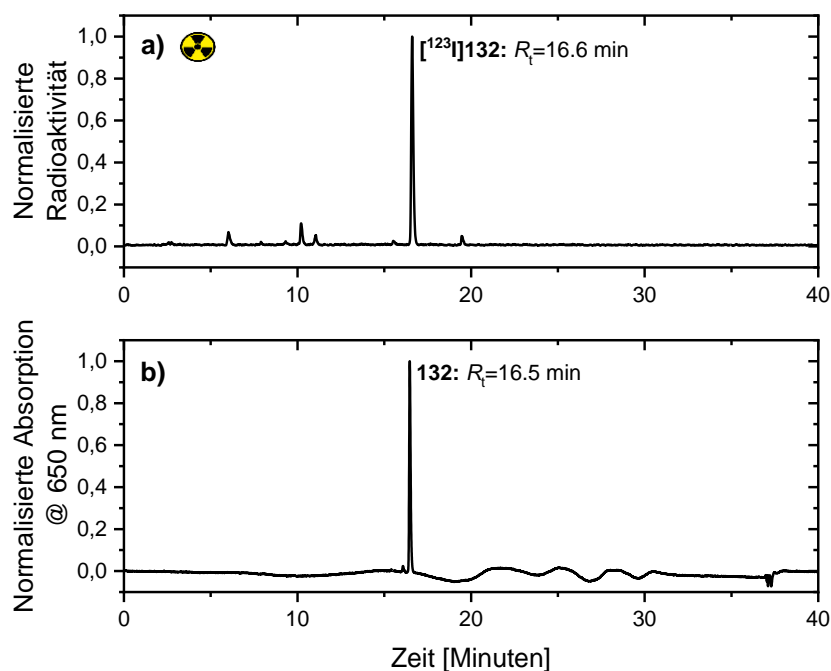


Abbildung 23: Identitätsnachweis von $[^{123}\text{I}]\mathbf{132}$. Überblick der normalisierten Radio-HPLC-Chromatogramme a) von $[^{123}\text{I}]\mathbf{132}$ [γ -Detektion, Zählrate] mit $R_t=16.6$ Minuten und b) $\mathbf{132}$ als nicht-radioaktive Referenzsubstanz [UV-Detektion, 650 nm] mit $R_t=16.5$ Minuten. Methode: 45–95% MeCN/ $\text{H}_2\text{O}+0.1\%$ v/v TFA als Additiv, linearer Gradient in 28 Minuten, System 7.

Abbildung 23 zeigt eine hohe radiochemische Umsetzung des PFP-Esters $[^{123}\text{I}]\mathbf{128}$ von 76% zu einem Hauptprodukt. Die Retentionszeit dieser radioiodierten Verbindung (Abbildung 23a,

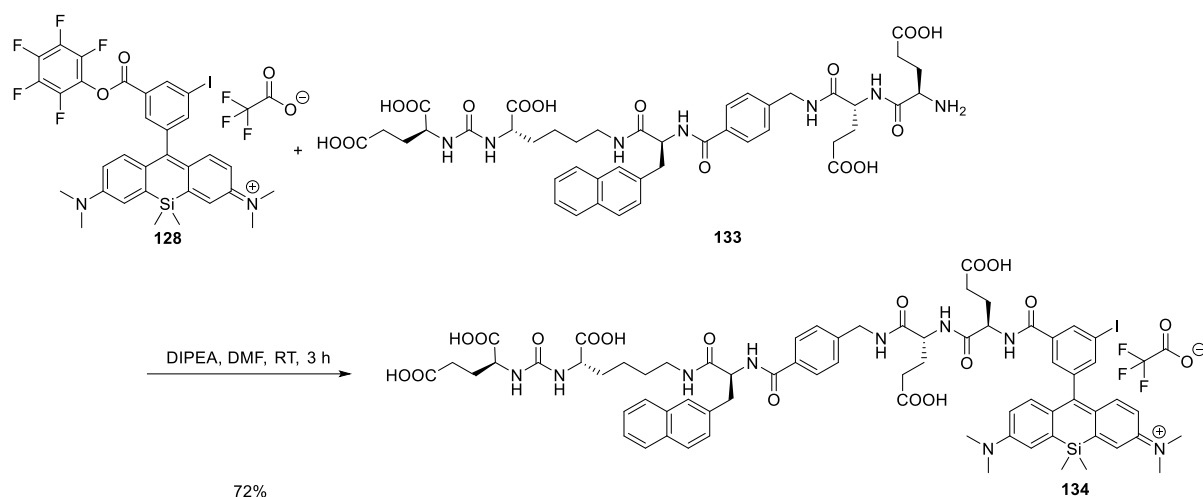
$R_t=16.6$ Minuten) korreliert mit der Retentionszeit der nicht-radioaktiven Verbindung des Indomethacin-funktionalisierten Si-Rhodamins **132** (Abbildung 23b, $R_t=16.5$ Minuten). Aus diesem Grund kann von einer erfolgreichen Umsetzung des radioiodierten PFP-Esters [^{123}I]**128** mit dem Indomethacin-4-aminobutyl-1-amid **131** zum Konjugat **132** ausgegangen werden. Die erhaltene hohe radiochemische Umsetzung verspricht ebenso eine hohe radiochemische Ausbeute. Aus zeitlichen Gründen wurden keine weiteren Charakterisierungen und biologische Evaluierungen sowohl des erhaltenen Radiotracers [^{123}I]**132** und als auch des nicht-radioaktiven Farbstoffkonjugats **132** vorgenommen.

Ein weiterer Targetvektor, welcher im Rahmen dieser Arbeit genauer untersucht wurde, ist der PSMA-Bindungsvektor. Dieser sollte an das radioiodierte Si-Rhodamin [^{123}I]**128** geknüpft werden. Zur Konjugation an das entsprechende Si-Rhodamin diene die Grundstruktur des PSMA-1007-Vorläufers **133**. Da der Wirkstoff [^{18}F]PSMA-1007 eine hohe Bindungsaffinität zu PSMA-positiven LNCaP-Prostatatumorzellen ($K_d=6.7\pm 1.7$ nM) zeigt, ist es von besonderem Interesse, ob und inwiefern das niedermolekulare Si-Rhodamin **134** des entsprechenden PSMA-Inhibitor-Si-Rhodamin-Farbstoffkonjugats die hohe Bindungsaffinität zu Prostatatumorzellen beeinflusst.^[19, 24]

Danach sollte der neue Radiotracer radiochemisch charakterisiert und anschließend erste biologische Untersuchungen mit dem Tracer durchgeführt werden, um die Eigenschaften des Radiotracers zu beurteilen und um den direkten Vergleich des neuen Farbstoffkonjugats zum PET-Radiotracer [^{18}F]PSMA-1007 zu ziehen. Zusätzlich sollte als Vergleichssubstanz die nicht-radioaktive Referenzsubstanz *in vitro* und *in vivo* analysiert werden. Daraus kann folglich die Performance des neuentwickelten Farbstoffkonjugats **134** als Radiotracer für die bimodale Bildgebung, welcher überwiegend zur SPECT-Bildgebung genutzt werden soll, aber auch des nicht-radioaktiven Konjugats zur Nutzung in der optischen Bildgebung und der Fluoreszenz-gestützten Chirurgie zur Tumorresektion bewertet werden.

Analog zu den vorangegangenen Konjugationsvorschriften zur Carbonsäureamid-Bildung, wurde im folgenden das PSMA-Bindungsmotiv **133** an das PFP-Ester-funktionalisierte Si-Rhodamin **128** angeknüpft (Schema 40).

3. Ergebnisse und Diskussion



Schema 40: Die Umsetzung des PFP-funktionalisierten Si-Rhodamins **128** mit dem freien primären Amin des PSMA-1007-Vorläufers **133** zum entsprechenden PSMA-Inhibitor-funktionalisierten Carbonsäureamid **134**.

Die Synthese des nicht-radioaktiven Konjugats **134** erfolgte mit dem PSMA-1007-Vorläufer **133**, dem PFP-Ester **128** und DIPEA (sechs Äquivalente) als Base in DMF für drei Stunden bei Raumtemperatur. Die anschließende HPLC-Aufreinigung des Rohprodukts (10–90% MeCN/H₂O, linearer Gradient in 35 Minuten, mit 0.1% v/v TFA als Additiv, *System 2*) lieferte das entsprechende PSMA-Si-Rhodamin-Konjugat **134** mit einer chemischen Ausbeute von 72%. Die Synthese wurde durch die Überprüfung der Integralverhältnisse der Signale im ¹H-NMR-Spektrum als auch durch die Zahl der Signale im ¹³C-NMR-Spektrum bestätigt. Laut ¹⁹F-NMR-Spektrum konnte das Trifluoracetat als anionisches Gegenion nachgewiesen werden. Ein MALDI-MS-Experiment (Matrix: α -CHCA: α -Cyano-4-hydroxymizsäure) zeigte das Molekülion [M]⁺ bei $m/z=1444.4$ (berechnet: $m/z=1444.4454$). Des Weiteren zeigte das HR-ESI-MS ebenfalls das Molekülion [M]⁺ mit dem passenden Masse-zu-Ladung-Verhältnis $m/z=1444.4445$. Nach Bestimmung der optischen Eigenschaften in PBS ($pH=7.4$) zeigte **134** ein Absorptionsmaximum bei 659 nm und ein Emissionsmaximum bei 682 nm. Somit wird ersichtlich, dass die Absorptions- und Emissionseigenschaften im Vergleich zu den vorherigen Si-Rhodaminen (z.B. von Si-Rhodamin **100–103**) bathochrom verschoben sind. Zudem zeigt der molare Absorptionskoeffizient in PBS einen vergleichsweise hohen Wert von $93.000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ mit einer Quantenausbeute von 12%. Anhand dieser Eigenschaften ist ein Einsatz in der Fluoreszenz-gestützten Chirurgie sinnvoll.

Im nächsten Schritt wurde mithilfe des „shake flask-Verfahrens“ und basierend der Absorptionseigenschaften des Si-Rhodamins **134** der Verteilungskoeffizient experimentell in einem *n*-Oktanol/PBS-Gemisch bestimmt.^[337-338] Für den Verteilungskoeffizient ergab sich ein Wert von $\log D_{pH=7.4}=-1.23\pm 0.26$ ($n=5$). Der Verteilungskoeffizient zeigt eine ausgeprägte Wasserlöslichkeit des Konjugats **134** unter physiologischen Bedingungen.

Die Verteilungskoeffizienten vom Konjugat **134** und dem kommerziell erhältlichen PSMA-1007-Wirkstoff zeigen im direkten Vergleich eine ähnliche Wasserlöslichkeit ($\log D_{pH=7.4} = -1.6$).^[339] Im Gegensatz zu anderen verwandten klinisch erfolgreich getesteten und hochaffinen Wirkstoffen (z.B. PSMA-11 ($\log D_{pH=7.4} = -2.9$), PSMA-617 ($\log D_{pH=7.4} = -4.3$) oder das PSMA-DCFPyL ($\log D_{pH=7.4} = -3.4$)) besitzt **134** dahingegen eine um einige Größenordnungen geringere Wasserlöslichkeit.^[339-341] Die niedrigere Wasserlöslichkeit und somit erhöhte Lipophilie kann zu einem entscheidenden Einfluss der Pharmakokinetik von **134** *in vivo* führen.^[26]

Das nicht-radioaktive Konjugat **134** wurde nun *in vitro* und *in vivo* biologisch näher untersucht, um etwaige Bindungsaffinitäten des neuen Farbstoffs **134** zu PSMA-positiven LNCaP-Prostatatumorzellen zu ermitteln.⁵ Die Fähigkeit des Konjugats **134** an LNCaP-Prostatatumorzellen zu binden wurde basierend auf der Detektion der Fluoreszenzsignale des Si-Rhodamins **134** an einem entsprechenden Fluoreszenz-Scansystem untersucht (Typhoon™ FLA 9500, GE Healthcare, Boston, USA Biomolecular Imager GE Healthcare Bio-Sciences Corp., Marlborough, MA, USA).

In Bindungsstudien wurde das Konjugat **134** zusammen mit einem 300-fachen Überschuss von 2-PMPA (2-Phosphonomethylpentandicarbonsäure) zu frisch kultivierten LNCaP-Tumorzellen gegeben. Das 2-PMPA gilt als Blockade- und Verdrängungsreagenz zur Bestimmung der totalen Bindung in LNCaP-Tumorzellen. Die Bindungsstudien wurden mit unterschiedlichen Pufferlösungen bei 0 °C durchgeführt, um ideale Bedingungen zur Verdrängung des 2-PMPA durch das Konjugat **134** zu untersuchen. Dabei wurden als Pufferlösungen PBS ($pH=7.4$) und bovines Serumalbumin (BSA; 5%) oder PBS ($pH=7.4$) und Triton-X 100 als Detergens verwendet. Die Behandlungsdauer der LNCaP-Tumorzellen mit verschiedenen Konzentrationen des Konjugats **134** (500 nM, 250 nM, 125 nM and 62.5 nM) betrug 90 Minuten. Anschließend wurden die Zellen mit den Pufferlösungen gewaschen und mithilfe des Fluoreszenzscansystems analysiert. In Abbildung 24 sind die Ergebnisse der Bindungsstudien gezeigt.

Die Bindungsstudien veranschaulichen, dass keine signifikant hohe spezifische Bindung vom Konjugat **134** zu LNCaP-Prostatatumorzellen vorhanden ist, da in Relation zur totalen Bindung (TB) ein sehr hoher Anteil an unspezifischer Bindung (USB) zu erkennen ist. Dieser Trend wurde in beiden Pufferlösungen festgestellt.

⁵ Das nicht-radioaktive Konjugat **134** wurde von Dr. Cornelius Donat (Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf, Institut für Radiopharmazeutische Krebsforschung, Abteilung Translationale TME-Liganden) *in vitro* und *in vivo* biologisch untersucht.

3. Ergebnisse und Diskussion

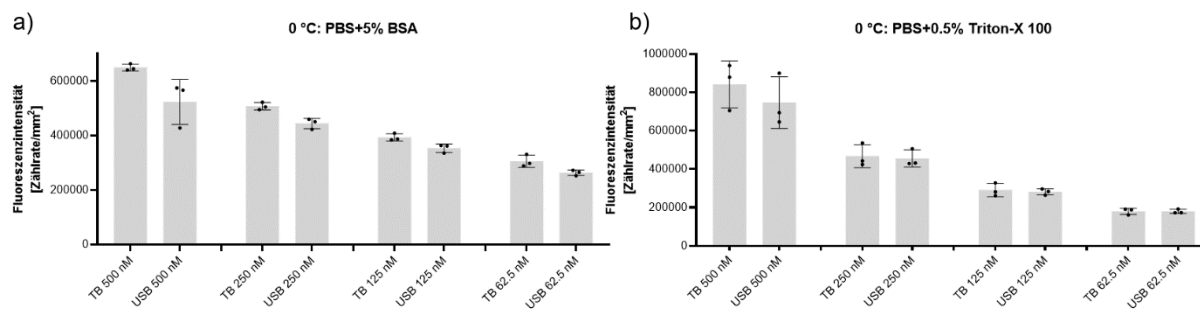


Abbildung 24: Bindungsstudien mit PSMA-positiven LNCaP-Tumorzellen und verschiedenen Konzentrationen des Farbstoffkonjugats **134**. Dabei wurden die Pufferlösungen a) PBS ($pH=7.4$) mit bovinem Serumalbumin (BSA; 5%) oder b) PBS ($pH=7.4$) und Triton-X 100 genutzt. Die Daten beruhen auf Fluoreszenzdetektion. Als Verdrängungsreagenz wurde 2-Phosphonomethylpentandicarbonsäure (2-PMPA) in einem 300-fachen Überschuss genutzt. Die Behandlung der Zellen mit 2-PMPA und dem Konjugat **134** erfolgte bei 0 °C.

Der Anteil an unspezifischer Bindung für die jeweiligen Konzentrationen an **134** und der verwendeten Pufferlösungen ist in Abbildung 25 gezeigt. Daraus ergeben sich für die Experimente mit den höchsten Konzentrationen des Konjugats (500 nM) die höchsten Werte der Verdrängung von 2-PMPA mit einer spezifischen Bindung von lediglich 20% (Abbildung 25a; 500 nM) bzw. 14% (Abbildung 25b; 500 nM). Für die restlichen Konzentrationen konnten nur geringe spezifische Bindungen (1%–14%) ermittelt werden.

Der hohe Anteil an unspezifischer Bindung lässt vermuten, dass das Konjugat **134** keine hohe Affinität zu LNCaP-Tumorzellen besitzt.

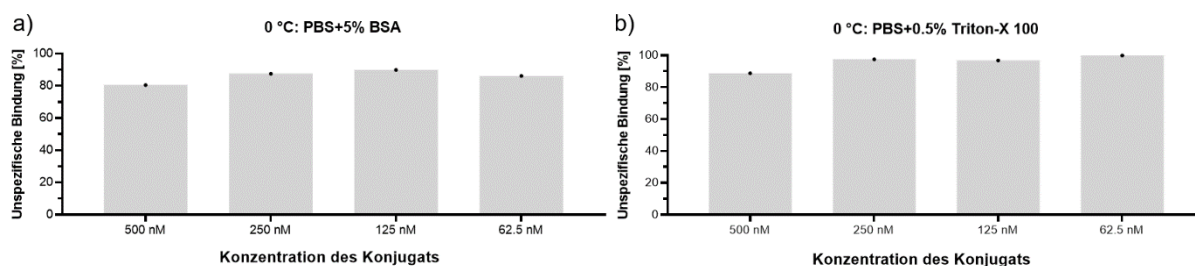


Abbildung 25: Ergebnisse der Bindungsstudien mit PSMA-positiven LNCaP-Tumorzellen und verschiedenen Konzentrationen des Farbstoffkonjugats **134** durch Angabe der unspezifischen Bindung (USB) relativ zur erhaltenen totalen Bindung (TB). a) Behandlung und Waschung der Zellen mit PBS ($pH=7.4$) und bovinem Serumalbumin (BSA; 5%) oder b) PBS ($pH=7.4$) und Triton-X 100 als Detergens.

Im nächsten Schritt wurden Gewebeschnitte in Form von Gefrierschnitten von LNCaP- und PC3-Tumoren und Muskelgewebe isoliert und anschließend mit dem Farbstoffkonjugat **134** und 2-PMPA (300-facher Überschuss) behandelt, um Rückschlüsse zu selektiven Anreicherungen im Gewebe zu erzielen. Die Analyse der Gewebeschnitte erfolgte erneut

basierend auf Fluoreszenzdetektion. In Abbildung 26a sind die untersuchten Gewebeschnitte und in Abbildung 26b die daraus resultierenden Ergebnisse der unspezifischen Bindung des Konjugats **134** nach Auswertung der Fluoreszenzdetektion gezeigt.

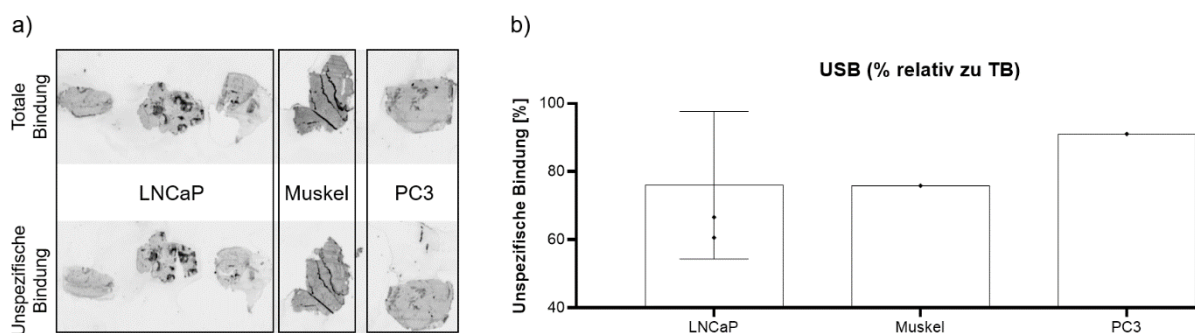


Abbildung 26: a) Gefriergewebeschnitte von LNCaP- und PC3-Tumoren und Muskelgewebe, welche mit dem Farbstoffkonjugat **134** und 2-PMPA (300-facher Überschuss) behandelt wurden. b) Das Balkendiagramm zeigt die resultierende unspezifische Bindung des Konjugats **134** zum entsprechenden Gewebe nach Auswertung der erhaltenen Fluoreszenzsignalen.

Analog zu den Zellbindungsstudien zeigen die Gewebeschnitte ähnlich hohe unspezifische Bindungseigenschaften des Farbstoffkonjugats **134** mit LNCaP-Tumorgewebe, sodass lediglich von einer geringen spezifischen Bindung von maximal 24% ausgegangen werden kann (Abbildung 26b). Zudem wurde eine hohe unspezifische Bindung in Muskelgewebe und PC-3 Tumorgewebe festgestellt. Die höhere spezifische Bindungsaffinität von **134** zu LNCaP-Tumorgewebe im Vergleich zum PC3-Gewebe (spezifische Bindung: 9%) zeigt, dass sich **134** tendenziell selektiver in LNCaP-Gewebe anreichert als in PC-3 Gewebe. Um konkrete Aussagen über die selektive Anreicherung von **134** in LNCaP-Tumorgewebe zu tätigen, müsste jedoch der Anteil an spezifischer Bindung höher sein.

Aufgrund der beobachteten Ergebnisse zur geringen Bindungsaffinität von Konjugat **134** zu den LNCaP-Tumorzellen wurde im Folgenden eine Dosis-Wirkungs-Kurve ermittelt, um die Inhibitoreigenschaften von **134** zu analysieren. In der Pharmakologie wird hierzu die mittlere inhibitorische Konzentration IC_{50} (IC_{50} , engl.: „half maximal inhibitory concentration“) zur Hilfe genommen, um die Inhibitorwirkung von Hemmstoffen oder Antagonisten zu beschreiben. Der IC_{50} -Wert gibt dabei die Konzentration an, welche benötigt wird, um einen biologischen Prozess halbmaximal zu inhibieren.^[342]

In Abbildung 27 ist die Dosis-Wirkungs-Kurve des Konjugats **134** zu LNCaP-Tumorzellen zur Bestimmung des IC_{50} -Werts gezeigt. Als Verdrängungsreagenz wurden hierbei unterschiedliche Konzentrationen des 2-PMPA genutzt. Aus dem Graphen lässt sich erkennen, dass verhältnismäßig hohe Konzentrationen an 2-PMPA (im mM-Bereich)

erforderlich waren, um eine Verdrängung des Konjugats **134** in den LNCaP-Tumorzellen zu erkennen.

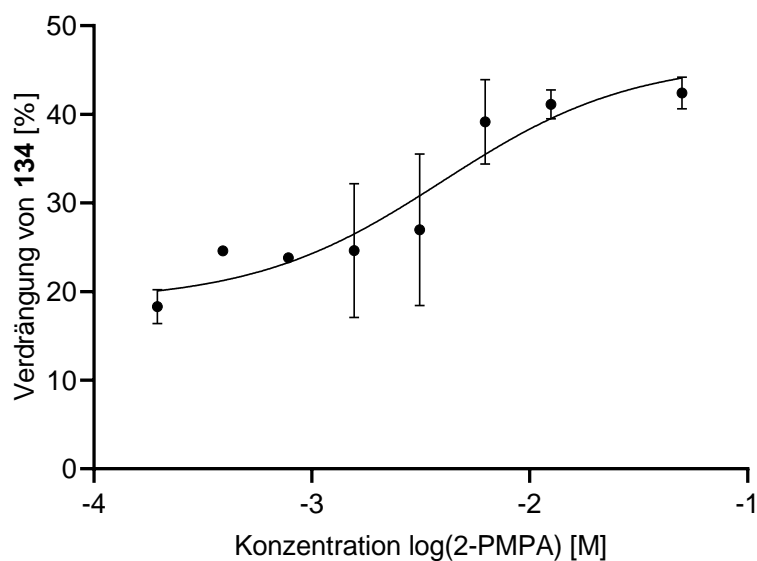


Abbildung 27: Dosis-Wirkungs-Beziehung des Konjugats **134** zu den LNCaP-Tumorzellen zur Bestimmung des IC_{50} -Werts. Als Verdrängungsreagenz wurden unterschiedliche Konzentrationen von 2-PMPA genutzt. Der ermittelte IC_{50} -Wert betrug 3.99 mM, sodass von keiner Bindungsaffinität von **134** zu LNCaP-Tumorzellen ausgegangen werden kann.

Anhand der Dosis-Wirkungs-Kurve lässt sich eine halbmaximale inhibitorische Konzentration von $IC_{50}=3.99$ mM errechnen. Da dieser Wert sehr hoch ist, ist von keiner signifikanten Bindungsaffinität des Konjugats **134** zu LNCaP-Tumorzellen auszugehen. Des Weiteren muss berücksichtigt werden, dass aufgrund der eingesetzten millimolaren Konzentrationen von 2-PMPA und der generell hohen unspezifischen Bindungseigenschaften des Konjugats **134**, der IC_{50} -Wert in dieser Größenordnung nicht akkurat ermittelt werden kann.

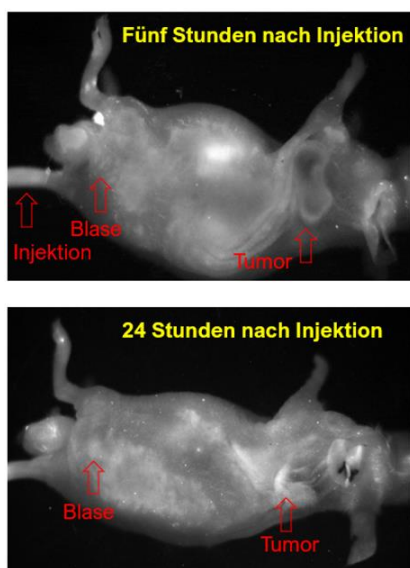
Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die mit dem Farbstoffkonjugat **134** erhobenen *in vitro* Daten keine signifikant hohe Bindungsaffinität zu den LNCaP-Tumorzellen zeigen. Dennoch wurden im nächsten Schritt *in vivo* Experimente durchgeführt, um die Verteilung des nicht-radioaktiven Farbstoffkonjugats **134** in lebenden Nacktmäusen zu untersuchen und eine potentielle Anreicherung in LNCaP-Tumorgewebe festzustellen.

In Abbildung 28a sind die optischen Aufnahmen von Nacktmäusen (Typ: Crl:NMRI-Foxn1^{nu}) gezeigt, welche mit dem nicht-radioaktiven Biokonjugat **134** injiziert wurden. Die Nacktmäuse wurden mit LNCaP-Tumorzellen (Anzahl der Tumorzellen: 5×10^6) inokuliert. Die Studien wurden nach vier Wochen durchgeführt, nachdem der Tumor eine Mindestgröße von 5 mm erreicht hatte. Das PSMA-funktionalisierte Si-Rhodamin **134** wurde in einer Lösung aus PBS/Ethanol (5%) mit einer Menge von ca. 100 μ g (Stammlösung: 1.00 mM in PBS+5%

EtOH, 64.2 μ L, 64.2 nmol) in die Nacktmäuse injiziert. Anschließend wurden nach verschiedenen Zeitpunkten die optischen Aufnahmen (fünf Stunden und 24 Stunden) durchgeführt.

Aus den Fluoreszenzaufnahmen in Abbildung 28a wird ersichtlich, dass fünf Stunden nach Injektion des Biokonjugats **134** in den Schwanz der Nacktmaus eine erhöhte Fluoreszenz an der Injektionsstelle des Schwanzes vorhanden ist. Dies wird auch durch Auswertung der Fluoreszenzemissionen während der Bioverteilung des Konjugats in der Maus ersichtlich (Abbildung 29, blau), sodass die Fluoreszenz nach fünf Stunden langsam aber stetig absinkt. Dies ist wohl aufgrund der erhöhten Lipophilie oder der injizierten erhöhten Konzentration des Konjugats **134** zurückzuführen. Erhöhte Konzentrationen des Konjugats **134** können, aufgrund der π - π -Wechselwirkung der Aromaten im Si-Rhodamin-Gerüst, zu einer Aggregatbildung des Farbstoffs führen. Zudem lässt sich anhand von Abbildung 29 und den damit einhergehenden Fluoreszenzsignalen erkennen, dass die Aufnahme des Konjugats **134** in Leber und Niere recht hoch ausfällt. Dies unterstützt ebenfalls die These einer verhältnismäßig hohen Lipophilie des Konjugats. Zusätzlich wird ersichtlich, dass die Aufnahme von **134** im LNCaP-Tumor sehr gering ausfällt. Nach 24 Stunden reduziert sich die allgemeine Intensität der Fluoreszenz in der Nacktmaus. Jedoch lässt sich immer noch keine erhöhte Fluoreszenz im Tumor erkennen.

a) *In vivo* Fluoreszenz-Bildgebung



b) *Ex vivo* Fluoreszenz-Bildgebung: Fünf Stunden nach Injektion

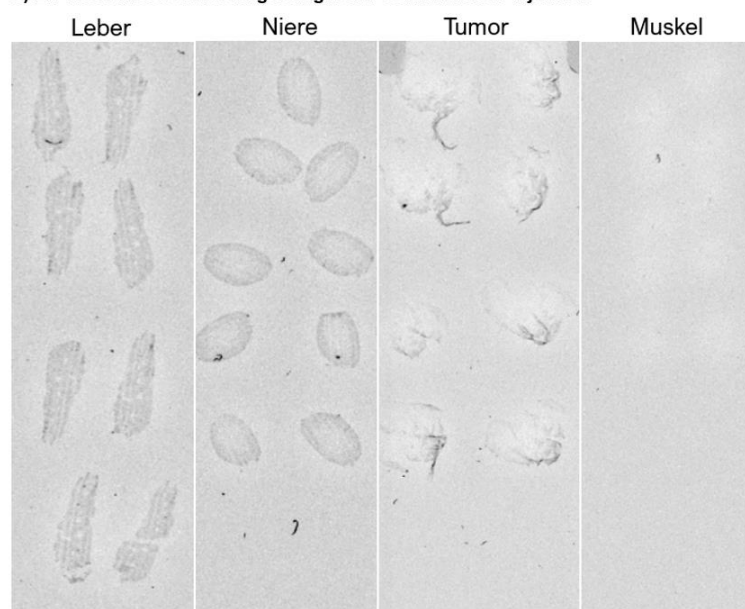


Abbildung 28: Daten der *in vivo* Experimente nach Injektion des PSMA-Inhibitor-funktionalisierten Si-Rhodamins **134** in eine Nacktmaus mit Prostatatumor-Xenograft. a) Fluoreszenzaufnahmen von Nacktmäusen nach Injektion des nicht-radioaktiven **134** und nach verschiedenen Zeitpunkten (fünf Stunden und 24 Stunden). b) Fluoreszenzaufnahmen der *ex vivo* Untersuchungen der Organe und Gewebe nach fünf Stunden.

Wie die *in vitro* Bindungsstudien bereits zeigten, lassen die *in vivo* Experimente ebenfalls vermuten, dass das Si-Rhodamin **134** keine signifikante Bindungsaffinität zu LNCaP-Tumorgewebe besitzt.

Nach Injektion einer weiteren Nacktmaus mit einer ähnlichen Stoffmenge des Konjugats **134** wurde eine *ex vivo* Untersuchung durchgeführt und die Organe mittels Fluoreszenzdetektion analysiert (Abbildung 28b). Analog zu den *in vivo* Aufnahmen, zeigen die *ex vivo* Aufnahmen ebenfalls eine erhöhte Aufnahme in Leber und Niere. Zudem konnten keine Fluoreszenzsignale im Muskel festgestellt werden. Die auf Fluoreszenzdetektion basierenden Daten zeigen ebenfalls eine sehr geringe Aufnahme im Tumor.

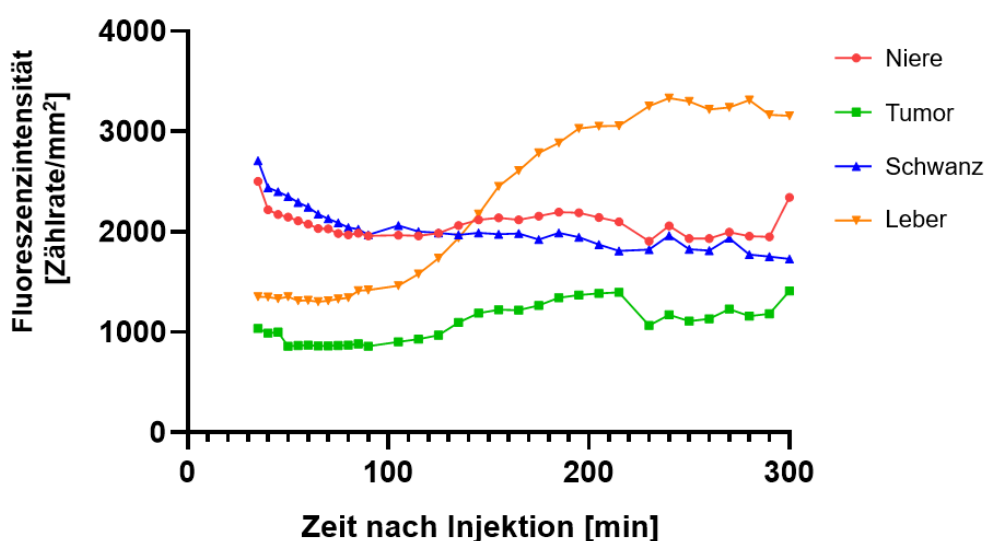
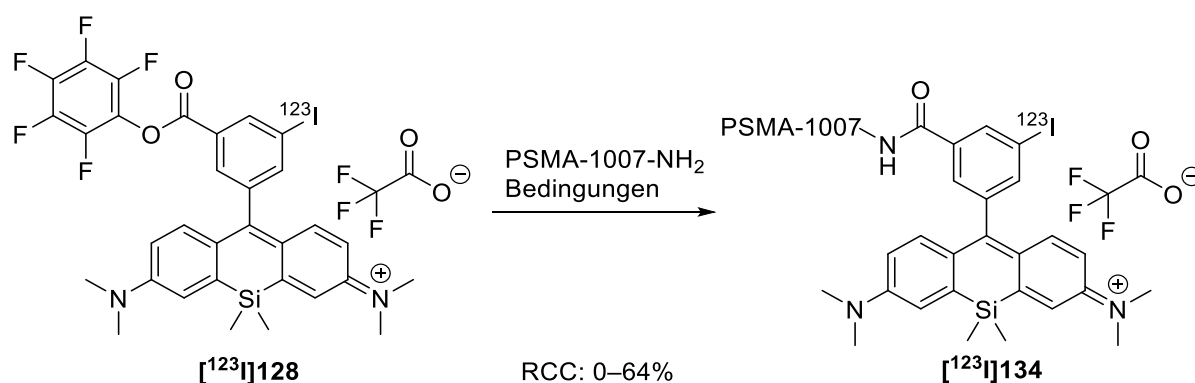


Abbildung 29: Zeitabhängige Fluoreszenzintensitäten in einer Echtzeitanalyse der Organe und Gewebe nach Injektion des nicht-radioaktiven Si-Rhodamins **134** in eine Nacktmaus mit Prostata-Tumor-Xenograft.

Die geringen LNCaP-Tumoraufnahmen in der Maus bestätigen erneut eine geringe Affinität des Konjugats **134** zu LNCaP-Tumorzellen. Hierfür könnte ein möglicher Grund die vergleichsweise hohe Lipophilie des Konjugats oder auch der geringe Abstand des Si-Rhodamin-Grundgerüsts zum PSMA-Wirkstoff sein. Jedoch ist anzumerken, dass der Wirkstoff [¹⁸F]PSMA-1007 einen ähnlichen Verteilungskoeffizienten aufweist, aber dennoch hochaffine Bindungseigenschaften zu LNCaP-Tumorzellen aufweist. Aus diesem Grund könnte ein erhöhter Abstand zwischen den beiden Teilen des Moleküls eher zu einer besseren Affinität zu Prostata-Tumorzellen führen. Die beiden Aspekte der erhöhten Lipophilie und des geringen Abstands zwischen dem Farbstoff und dem PSMA-Bindungsvektor könnten durch die Einführung eines geeigneten wasserlöslichen Linkers optimiert und verbessert werden. Im Folgenden sollte der direkte Vergleich des nicht-radioaktiven PSMA-funktionalisierten Si-Rhodamins **134** und des radioaktiven Analogons in biologischen Experimenten verfolgt

werden. Aus diesem Grund wurde zunächst die radioaktive Verbindung $[^{123}\text{I}]\mathbf{134}$ synthetisiert, um anschließend die biologische Evaluierung durchzuführen und SPECT-Aufnahmen zu generieren. Im Vergleich zum nicht-radioaktiven Konjugat $[^{123}\text{I}]\mathbf{134}$ sind zur biologischen Evaluierung des radioaktiven Analogons lediglich pikomolare Stoffmengen notwendig, sodass dieser Stoffmengenunterschied ebenfalls einen Einfluss auf die Bioverteilung der Farbstoff-Konjugate haben kann.

Die Konjugation von $[^{123}\text{I}]\mathbf{128}$ mit dem PSMA-Wirkstoff $\mathbf{133}$ zu $[^{123}\text{I}]\mathbf{134}$ wird in Schema 41 gezeigt. Hierbei wurden unterschiedliche Bedingungen zur Konjugation genutzt, um eine möglichst hohe radiochemische Umsetzung zu erzielen. So wurde die Reaktion unter basischen Bedingungen in PBS ($\text{pH}=8.8$ oder $\text{pH}=9.8$) oder in DMF mit verschiedenen sterisch anspruchsvollen Basen durchgeführt. Hier wurden die Reaktionsbedingungen mit 20 Minuten Reaktionszeit und mit $60\text{ }^\circ\text{C}$ Reaktionstemperatur gewählt (Tabelle 19; Einträge: 1–9). Die Stoffmengenanteile (Äquivalente) basieren auf dem radioiodierten PFP-Ester $[^{123}\text{I}]\mathbf{128}$, welcher in wasserfreiem Acetonitril vorlag. Für die Reaktionsansätze wurde der PSMA-Tracer Vorläufer $\mathbf{133}$ in einem Überschuss von 11 Äquivalenten eingesetzt.



Schema 41: Die Untersuchungen zur Biokonjugation des radiomarkierten Si-Rhodamins $[^{123}\text{I}]\mathbf{128}$ als prosthetische Gruppe mit dem primären Amin des PSMA-1007-Bindungsmotivs $\mathbf{133}$ für mindestens 20 Minuten bei $60\text{ }^\circ\text{C}$. $[^{123}\text{I}]\mathbf{134}$ konnte mit radiochemischen Umsetzungen bis zu 64% erhalten werden.

Die unterschiedlichen Bedingungen lieferten das Si-Rhodamin $[^{123}\text{I}]\mathbf{134}$ mit radiochemischen Umsetzungen bis zu 64%. Dabei wurde die RCC mittels Radio-HPLC ermittelt (Methode: 45–95% MeCN/H₂O+0.1% v/v TFA als Additiv, linearer Gradient in 28 Minuten, System 7).

Es wurde festgestellt, dass die Bedingungen, welche zu dem Benzylamin-funktionalisierten Si-Rhodamin $[^{123}\text{I}]\mathbf{130}$, aber auch zum Indomethacin-funktionalisierten Si-Rhodamin $[^{123}\text{I}]\mathbf{132}$ führten (PBS ($\text{pH}=7.4$), 20 Minuten, $60\text{ }^\circ\text{C}$), keinen Umsatz zu dem PSMA-Inhibitor-funktionalisierten Si-Rhodamin $[^{123}\text{I}]\mathbf{134}$ zeigten (Tabelle 19, Eintrag: 1). Hierbei wurde der PSMA-Tracer Vorläufer $\mathbf{133}$ in DMSO gelöst.

3. Ergebnisse und Diskussion

Die Erhöhung des pH-Wertes in PBS ($pH=9.8$) führte ebenfalls zu keiner Umsetzung, sodass der PFP-Ester [^{123}I]**128** nach einer Reaktionszeit von 20 Minuten bei 60 °C unverändert vorlag (Eintrag: 2). Da die wässrigen Bedingungen zu keinem Erfolg bei der Synthese von [^{123}I]**134** führten, wurden ähnliche Bedingungen untersucht, welche für die Synthese des nicht-radioaktiven PSMA-Inhibitor funktionalisierten Si-Rhodamins **134** erfolgreich genutzt wurden. Demnach wurde der PSMA-Tracer Vorläufer **133** in DMF gelöst. Nach Verwendung der sterisch gehinderten und nicht-nukleophilen Base DIPEA (66 Äquivalente) wurde [^{123}I]**134** in einem radiochemischen Umsatz von 36% erhalten (Eintrag: 3). Die Verdopplung der Stoffmenge von DIPEA (132 Äquivalente) führte lediglich zu einer RCC von 4% (Eintrag: 5). Unter analogen Bedingungen und 4-DMAP (0.6 Äquivalente) als Zusatz, konnte [^{123}I]**134** lediglich mit einer RCC von 8% erhalten werden (Eintrag: 4). Außerdem wurde festgestellt, dass als Nebenprodukt der PFP-Ester hydrolysiert wurde und somit die radioiodierte freie Carbonsäure [^{123}I]**124** entstanden ist. Die Entstehung und Präsenz des Nebenprodukts [^{123}I]**124** konnte in HPLC-Messungen anhand des nicht-radioaktiven Si-Rhodamins **124** als Referenz verifiziert werden.

Die Verwendung von 66 bzw. 132 Äquivalenten der Base Triethylamin (TEA) führten lediglich zu radiochemischen Umsetzungen von 14% bzw. 10% (Eintrag: 6 und 7).

Tabelle 19: Unterschiedliche Bedingungen zur Konjugation des radiomarkierten Si-Rhodamins [^{123}I]**128** mit dem primären Amin des PSMA-1007-Bindungsmotivs **133** zu dem PSMA-konjugierten Si-Rhodamin **134**, durch Verwendung verschiedener Lösungsmittelgemische und sterisch gehinderter Basen. Die Reaktionen wurden für mindestens 20 Minuten bei 60 °C durchgeführt. Die radiochemischen Umsetzungen wurden mittels Radio-HPLC ermittelt. Methode: 45–95% MeCN/H₂O+0.1% v/v TFA als Additiv, linearer Gradient in 28 Minuten, System 7.

Eintrag	Lösungsmittel	PSMA-1007 Vorläufer	Base*	Reaktionsbedingungen	RCC (laut Radio-HPLC)
1	PBS ($pH=8.8$), MeCN, DMSO	11 Äq.	-	60 °C, 20 min	0%
2	PBS ($pH=9.8$), MeCN, DMSO		-	60 °C, 20 min	0%
3	DMF, MeCN		DIPEA (66 Äq.)	60 °C, 20 min	36%
4	DMF, MeCN		DIPEA (66 Äq.), 4-DMAP (0.6 Äq.)	60 °C, 20 min	8%
5	DMF, MeCN		DIPEA (132 Äq.)	60 °C, 20 min	4%
6	DMF, MeCN		TEA (66 Äq.)	60 °C, 20 min	14%
7	DMF, MeCN		TEA (132 Äq.)	60 °C, 20 min	10%
8	DMF, THF, MeCN		DIPEA (66 Äq.)	60 °C, 40 min	64%
9	DMF, THF, MeCN		DIPEA (132 Äq.)	60 °C, 20 min	61%

Überraschenderweise wurde festgestellt, dass der Zusatz von THF zu höheren RCCs führt (Eintrag: 8 und 9). Demnach konnten hohe radiochemische Umsetzungen zwischen 61% und 64% erhalten werden.

Diese Bedingungen zeigen, dass für die Konjugation von [^{123}I]128 sterisch gehinderte und nicht-nukleophile Basen nötig sind.

Die Bedingungen aus Eintrag 8 wurden nun genutzt, um die Konjugation von [^{123}I]128 (160 nmol) zu dem PSMA-Inhibitor funktionalisierten Si-Rhodamin [^{123}I]134 durchzuführen. Nach erfolgter Reaktion wurde das Rohprodukt mittels semi-präparativer Radio-HPLC aufgereinigt (45–95% MeCN/H₂O, linearer Gradient in 33 Minuten, mit 0.1% v/v TFA als Additiv, System 6). Zwar konnte einmalig eine erfolgreiche Aufreinigung von [^{123}I]134 ausgeführt werden, jedoch betrug die erhaltene radiochemische Ausbeute in der entsprechend eingesammelten Fraktion lediglich 5%. Die erfolgreiche Radiosynthese von [^{123}I]134 kann durch den Vergleich der HPLC-Chromatogramme der nicht-radioaktiven Referenzsubstanz 134 bestätigt werden. Demnach korrelieren die Retentionszeiten von [^{123}I]134 ($R_t=6.3$ Minuten) und 134 ($R_t=6.3$ Minuten) zueinander (Abbildung 30).

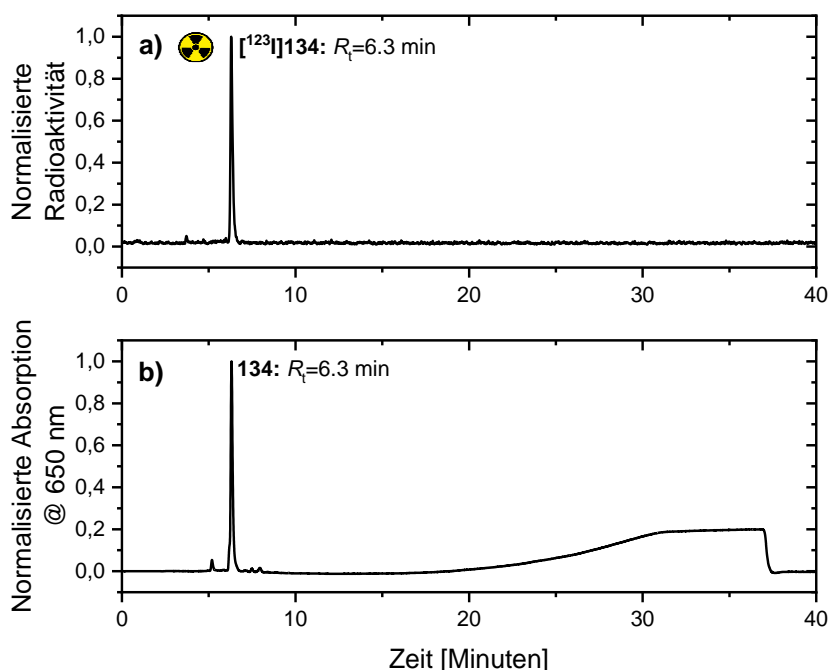


Abbildung 30: Identitätsnachweis von [^{123}I]134. Überblick der normalisierten Radio-HPLC-Chromatogramme a) von [^{123}I]134 [γ -Detektion, Zählrate] mit $R_t=6.3$ Minuten und b) 134 als nicht-radioaktive Referenzsubstanz [UV-Detektion, 650 nm] mit $R_t=6.3$ Minuten. Methode: 45–95% MeCN/H₂O+0.1% v/v TFA als Additiv, linearer Gradient in 28 Minuten, System 7.

Aus zeitlichen Gründen konnte die Formulierung durch SPE, die anschließende Elution von der Festphase und die Entfernung der Lösungsmittel im Rahmen dieser Arbeit nicht mehr realisiert werden. Außerdem wurden keine weiteren Optimierungsreaktionen durchgeführt, um die isolierte radiochemische Ausbeute zu erhöhen. Aus diesen Gründen konnten keine Verteilungskoeffizienten ($pH=7.4$) oder Stabilitätsuntersuchungen in humanem Serum bestimmt werden und sind somit Bestandteil zukünftiger Forschungsarbeiten.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Konjugation bzw. die Carbonsäureamid-Bildung des PFP-Ester-funktionalisierten Si-Rhodamins [^{123}I]**128** erfolgreich durchgeführt wurde. Nach Optimierungsversuchen konnten die entsprechenden Amid-funktionalisierten Si-Rhodamine [^{123}I]**130**, [^{123}I]**132** und [^{123}I]**134** mit hohen radiochemischen Umsetzungen erzielt werden, so dass diese nach Isolierung und Formulierung künftig für weitere Experimente bereitgestellt werden können. Zwar zeigt das nicht-radioaktive PSMA-funktionalisierte Si-Rhodamin **134** keine signifikante Bindungsaffinität zu PSMA-positiven LNCaP-Prostatatumorzellen, dennoch sollte in weiteren biologischen Experimenten die Bindungsaffinität des radioaktiven Analogons [^{123}I]**134** zu LNCaP-Tumorzellen evaluiert werden, um aussagekräftige *in vitro* Informationen aber auch der Bioverteilung von [^{123}I]**134** in Mäusen zu erhalten und etwaige Unterschiede festzustellen.

Die simple Konjugation des PFP-Esters [^{123}I]**128** als prosthetische Gruppe an andere klinisch-relevante und prominente Targetvektoren ermöglicht eine vielseitige Nutzung der radiomarkierten Si-Rhodamine in SPECT- und optischer Bildgebung. Dennoch sollte bei der Auswahl der Targetvektoren die erhöhte Lipophilie der prosthetischen Gruppe [^{123}I]**128** berücksichtigt werden. Aus diesem Grund sollten die Lipophilien des Targetvektors als auch der prosthetischen Gruppe [^{123}I]**128** nahe beieinander liegen, um die pharmakokinetischen Eigenschaften des resultierenden Tracers so gering wie möglich zu beeinflussen.

4. Zusammenfassung und Ausblick

Silizium-Rhodamine stellen als Nahinfrarot(NIR)-Fluoreszenzfarbstoffe und in Kombination mit Radionukliden eine wichtige Möglichkeit in der bimodalen Bildgebung dar. Die radiomarkierten Farbstoffe können für klinische Applikationen wie die bildgestützte chirurgische Entfernung von Tumoren genutzt werden.

In der vorliegenden Arbeit wurden durch mehrere organische Syntheseschritte Si-Rhodamine entwickelt und deren optische Eigenschaften im wässrigen Medium untersucht. Nach Radiomarkierung der Si-Rhodamine mit den klinisch relevanten Radionukliden Fluor-18, Technetium-99m und Iod-131 konnte eine Vielzahl von neuartigen radiomarkierten Si-Rhodaminen zur multimodalen Bildgebung (PET/OI und SPECT/OI) hergestellt und charakterisiert werden.

Im ersten Teilprojekt der Arbeit wurde eine Syntheseroute zur Herstellung von Si-Rhodaminen über Palladium-katalysierte Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplungsreaktionen optimiert. Diese Variante stellt eine alternative Syntheseroute zu den klassischen Herstellungsmethoden von Si-Rhodaminen mit relativ kurzen Synthesesequenzen dar. Außerdem ermöglicht diese Strategie einen schnellen Zugang zu neuartigen Si-Rhodaminen mit hoher chemischer Reinheit und umgeht aufwendige HPLC-Aufreinigungen. Mithilfe dieser Methode konnten Si-Rhodamine mit einer chemischen Ausbeute von bis zu 91% erhalten werden. Trotz der erhaltenen hohen Ausbeuten wurde auch festgestellt, dass *ortho*-substituierte Si-Rhodamine (relativ zum Xanthen-Grundgerüst) nicht zugänglich waren. Somit müssen für die Synthese *ortho*-substituierter Si-Rhodamine die bereits etablierten Herstellungsmethoden angewandt werden.

Im nächsten Teilprojekt der Arbeit wurde der Fokus auf die Markierung der Si-Rhodamine mit dem Gammaemitter Technetium-99m für die SPECT- und OI-Bildgebung gerichtet (Abbildung 31). Die Rhenium- und Technetium-99m-Komplexe **77** und **78** konnten in einer siebenstufigen Reaktion hergestellt werden. Dabei wurde der Rhenium(I)-Komplex **77** als nicht-radioaktive Referenzsubstanz zum Technetium(I) vollständig charakterisiert. Die optischen Eigenschaften von **77** zeigten maximale Absorptions- und Emissionswellenlängen im tiefroten bis klinischen NIR-Bereich (ca. 650 nm und 670 nm) und Quantenausbeuten im wässrigen Medium von 9% mit einer ausgeprägt hohen Photostabilität nach Bestrahlung des Farbstoffs mit NIR-Licht. Diese Daten lassen sich mit Farbstoffen, welche von der FDA zugelassen wurden (wie Protoporphyrin IX: $\Phi_F=0.08$ und Indocyaningrün: $\Phi_F=0.09$) und in der Fluoreszenz-gestützten Chirurgie Anwendung finden, kompetitiv vergleichen.^[241] Die Radiomarkierung des

Si-Rhodamins **76** mit Technetium-99m erfolgte mit einer radiochemischen Ausbeute von 59% und der isolierte Komplex **78** zeigte einen tendenziell lipophilen Charakter mit einem Verteilungskoeffizienten von $\log D_{\text{pH}=7.4}=1.11$. *In vitro* Dekomplexierungsexperimente des Rhenium-Komplexes **77** mit *L*-Histidin zeigten eine sehr hohe Stabilität nach 24 Stunden. Zusätzlich wurde festgestellt, dass der Technetium-Komplex **78** nach 24 Stunden in humanem Serum vollständig intakt war. Diese Erkenntnisse zeigen erstmals, dass der Farbstoff grundlegend für die SPECT/OI geeignet ist. Durch künftige *in vivo* Experimente kann eine intrinsische Selektivität des Technetium-99m-Komplexes untersucht werden. Außerdem kann der Einsatz der beiden Komplexe **77** und **78** zur Detektion von Wächterlymphknoten geprüft werden, da der Farbstoff ähnliche Eigenschaften wie kommerziell erhältliches nanokolloidales Technetium-99m und der Farbstoff Patentblau V besitzt, aber zusätzlich noch optische Eigenschaften im NIR-Wellenlängenbereich aufweist.

Des Weiteren kann die hohe Stabilität der Komplexe genutzt werden, um den Fokus auf die Einführung eines Targetvektors in das Si-Rhodamin-Grundgerüst zu richten und die selektive Anreicherung in zu untersuchendem Tumorgewebe zu erleichtern. Die Einführung von geeigneten Targetvektoren (z.B. PSMA-1007-Bindungsmotiv, Octreotid- oder FAPI-Liganden) kann sich zudem positiv auf die Wasserlöslichkeit des Radiotracers auswirken.

Da im Gegensatz zum Gammaemitter Technetium-99m höhere Auflösungen und quantitative Informationen mit dem Positronenemitter Fluor-18 für die PET-Bildgebung erhalten werden können, wurde der Fokus im weiteren Verlauf der Arbeit auf die Einführung von Fluor-18 in das Grundgerüst des Si-Rhodamins gelegt.

Zunächst wurde über eine SiFA-Austauschreaktion versucht, einen Fluor-19 und Fluor-18 Isotopenaustausch am sterisch gehinderten *tert*-Butyl-substituierten Silan des Si-Rhodamins zu erzielen. Es wurde jedoch festgestellt, dass die Vorläuferverbindung, welche für den Isotopenaustausch von Fluor-19 gegen radioaktives Fluor-18 dient, schwer zugänglich ist und eine hohe Instabilität aufweist. Aus diesem Grund konnte keine erfolgreiche Fluor-19 und Fluor-18 Isotopenaustauschreaktion nachgewiesen werden. Folglich müsste in künftigen Experimenten untersucht werden, ob eine stärker abschirmende und sterisch anspruchsvolle Gruppe (z.B. Adamantyl-Rest) das Silan vor unerwünschten Nukleophilen schützt, sodass ein erfolgreicher Isotopenaustausch stattfinden und das radiofluorierte Si-Rhodamin biologisch evaluiert werden kann.

Schließlich wurde die Radiofluorierung am freien Phenylring des Si-Rhodamins durchgeführt. Hierbei wurden literaturbekannte Methoden zur Kupfer-vermittelten Radiofluorierung (CMRF) von aromatischen Borverbindungen genutzt und aus diesem Grund verschiedene Boronsäure-funktionalisierte Regioisomere des Si-Rhodamins synthetisiert. Die nicht-radioaktiv fluorierten Referenzsubstanzen zeigen hohe Quantenausbeuten (8%–22%) aber

auch eine hohe Photostabilität im wässrigen Medium, sodass diese Si-Rhodamine in der Fluoreszenz-gestützten Chirurgie Anwendung finden können. Des Weiteren wurde gezeigt, dass die Kupfer-vermittelte Radiofluorierung lediglich mit zwei Regioisomeren des Si-Rhodamins erfolgreich verläuft. Die erhaltenen radiofluorierten Si-Rhodamine [**¹⁸F**]**103a** und [**¹⁸F**]**103b** konnten nach zahlreichen Optimierungsversuchen mit radiochemischen Ausbeuten zwischen 33% und 54% erhalten werden. Die isolierten Si-Rhodamine [**¹⁸F**]**103a** und [**¹⁸F**]**103b** sind nach zwei Stunden in einer Kochsalzlösung stabil und zeigen ebenfalls nach zwei Stunden in humanem Serum Stabilitäten zwischen 74% ([**¹⁸F**]**103b**) und 80% ([**¹⁸F**]**103a**). Außerdem wurden für beide Regioisomere hohe molare Aktivitäten zwischen 43 GBq/μmol ([**¹⁸F**]**103b**) und 70 GBq/μmol ([**¹⁸F**]**103a**) erhalten. Die ermittelten Verteilungskoeffizienten zeigen eine verhältnismäßig hohe Lipophilie für [**¹⁸F**]**103a** ($\log D_{\text{pH}=7.4}=2.92$) und [**¹⁸F**]**103b** ($\log D_{\text{pH}=7.4}=3.22$). Die geringe Wasserlöslichkeit der kationischen Si-Rhodamine muss bei der Derivatisierung der Farbstoffe zur Einführung von Targetvektoren berücksichtigt werden. Jedoch kann durch die Wahl von geeigneten Targetvektoren, welche eine hohe Anzahl an polaren funktionellen Gruppen besitzen (z.B. PSMA-1007-Bindungsmotiv oder Octreotid-Liganden), eine Absenkung der Lipophilie und folglich eine Erhöhung der Wasserlöslichkeit erreicht werden.

Eine weitere Methode, welche für aromatische Boronsäure-funktionalisierte Verbindungen zum Tragen kommt, ist die Kupfer-vermittelte Radioiodierung (CMRI) mit Radioisotopologen des Iods wie der Gammaemitter Iod-123. Mithilfe dieser Strategie konnte [**¹²³I**]**109**, unter milden Bedingungen, mit einer radiochemischen Ausbeute von bis zu 54% dargestellt und isoliert werden. Aufgrund der Einführung des lipophilen Iods in das Si-Rhodamin-Grundgerüst konnte ein Verteilungskoeffizient von $\log D_{\text{pH}=7.4}=3.48$ erhalten werden. Die sehr hohe molare Aktivität des Si-Rhodamins [**¹²³I**]**109** ($A_m=7.64$ TBq/μmol), welche bisher auch gleichzeitig die höchste molare Aktivität für NIR-Farbstoffe darstellt, verspricht für künftige biokonjugierbare und tumoraffine Si-Rhodamine ein hohes Signal-zu-Rausch-Verhältnis bei SPECT-Aufnahmen.

Des Weiteren konnte durch konfokale Laserscanning-Mikroskopie gezeigt werden, dass die nicht-radioaktiven Si-Rhodamine **103a** und **103b** in Kollokalisationsexperimenten mit dem Mitotracker® Green FM eine hohe mitochondriale Anreicherung in PC3-Tumorzellen aufweisen. Daher werden in künftigen Experimenten die unspezifischen und lipophilen Si-Rhodamine auf ihr vielversprechendes Potential als myokardiale Perfusionsmarker für die bimodale PET/OI- und SPECT/OI-Bildgebung hin untersucht.

Um eine selektive Anreicherung der bimodalen Si-Rhodamine in ausgewähltem Tumorgewebe zu erreichen, wurden die Si-Rhodamine entsprechend derivatisiert und für die Radiomarkierung vorbereitet. So wurde ein entsprechendes Si-Rhodamin für die Ausbildung

einer Carbonsäureamidbindung mit Targetvektoren durch eine Carboxylgruppe versehen und auch mit einer Boronsäure zur Radiomarkierung mit Fluor-18 und Iod-123 funktionalisiert. Anschließend wurde anhand von unterschiedlichen Bedingungen der CMRF festgestellt, dass sich der Vorläufer **118** nicht radiofluorieren ließ. Die alternative Variante der CMRI mit Iod-123 erfolgte dagegen mit einer hohen radiochemischen Ausbeute von 73% zum PFP-funktionalisierten Si-Rhodamin [¹²³I]**128**. In einer Folgereaktion konnte die erhaltene prosthetische Gruppe [¹²³I]**128** mit unterschiedlichen primären Aminen zum entsprechenden Carbonsäureamid derivatisiert werden. Somit konnten nach Optimierung im Rahmen dieser Arbeit eine Modellverbindung (4-Methylbenzylamin; RCC: 83%) und die Targetvektoren Indomethacin (RCC: 76%) und das PSMA-1007 (RCC: 64%) mit hohen radiochemischen Umsetzungen an [¹²³I]**134** radiokonjugiert werden. Die Ermittlung der radiochemischen Kenngrößen (radiochemische Ausbeute, molare Aktivität, Verteilungskoeffizient und Stabilitätsexperimente) aber auch die biologische Evaluierung (*in vitro* und *in vivo*) der entwickelten radioiodierten Radiotracer sind Gegenstand aktueller Forschung.

In ersten *in vitro* und *in vivo* Experimenten wurde festgestellt, dass die nicht-radioaktive Referenzsubstanz des PSMA-funktionalisierten Si-Rhodamins **134** ($\log D_{\text{pH}=7.4} = -1.23$) eine geringe Affinität zu LNCaP-Prostatatumorzellen und eine sehr niedrige Tumoranreicherung im Prostatakarzinom-Xenograft-Nacktmausmodell zeigt. Aus diesem Grund muss in künftigen Experimenten verifiziert werden, ob das dazugehörige radiomarkierte Konjugat [¹²³I]**134** ähnliche Ergebnisse liefert. Falls [¹²³I]**134** ebenfalls keine Tumoraaffinität aufweist, so könnte ein weiterer Linker zwischen dem Si-Rhodamin und dem PSMA-Bindungsmotiv mehr Erfolg in der Affinität und der Tumoranreicherung zeigen.

In weiteren Versuchen kann die Halbwertszeit des Iod-123 genutzt werden, um die prosthetische Gruppe [¹²³I]**128** an monoklonale Antikörper (z.B. Trastuzumab, Panitumomab oder Cetuximab) zu knüpfen und anschließend die Anreicherung im entsprechenden Gewebe über SPECT- und optische Bildgebung zu verfolgen. Die resultierenden Konjugate können dann in der Fluoreszenz-gestützten Chirurgie zur Tumorsektion eingesetzt werden.^[243, 343]

In Abbildung 31 ist eine Zusammenstellung der wichtigsten nicht-radioaktiven und radiomarkierten Si-Rhodamine gezeigt, welche in dieser Arbeit charakterisiert wurden.

4. Zusammenfassung und Ausblick

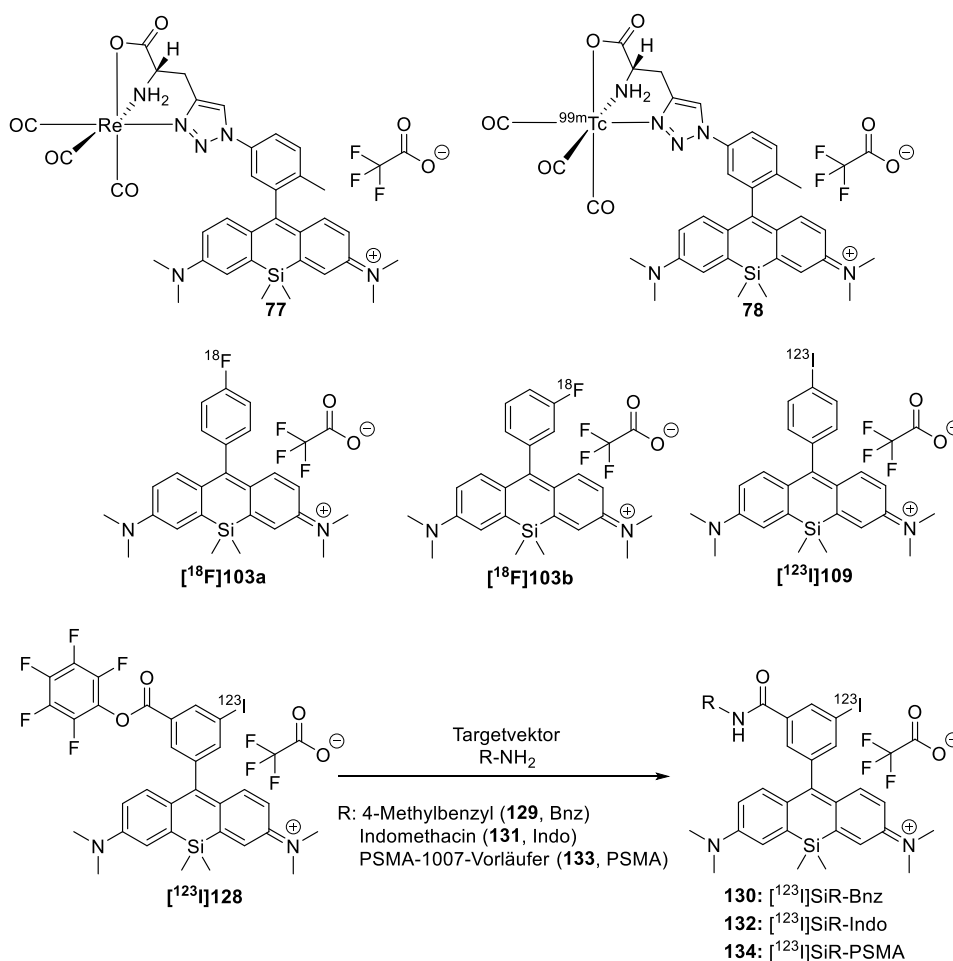


Abbildung 31: Die in im Rahmen dieser Arbeit nicht-radioaktiven und radioaktiv markierten Si-Rhodamine für eine Anwendung in der bimodalen Bildgebung (PET/OI oder SPECT/OI) zur Fluoreszenz-gestützten chirurgischen Entfernung von Tumoren.

Außerdem sind die dazugehörigen optischen und radiochemischen Eigenschaften der Si-Rhodamine aus Abbildung 31 in Tabelle 20 aufgezeigt.

Tabelle 20: Überblick der optischen und radiochemischen Eigenschaften der neuentwickelten Si-Rhodamine, welche im Rahmen dieser Arbeit synthetisiert wurden. Die optischen Eigenschaften wurden in PBS ($pH=7.4$) gemessen.

SiR	λ_{abs} [nm]	λ_{em} [nm]	ϵ_{max} [$\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$]	Φ_{F}	RCY	A_{m} [GBq/ μmol]	$\log D_{pH=7.4}$
77	654	669	39 100	0.09	-	-	-
78	-	-	-	-	59 \pm 2%	-	1.11 \pm 0.02
[^{18}F]103a	649	665	88 700	0.12	54 \pm 1%	70.1 \pm 3.2	2.92 \pm 0.32
[^{18}F]103b	650	666	51 100	0.08	33%	42.8 \pm 9.5	3.22 \pm 0.18
[^{123}I]109	648	667	41 100	0.14	54 \pm 5%	7640 \pm 270	3.48 \pm 0.29
[^{123}I]128	-	-	-	-	73 \pm 5%	-	-

5. Experimental Section

5.1 General remarks

Unless otherwise stated reactions requiring exclusion of oxygen and moisture were carried out in heat-gun dried flasks under argon gas or nitrogen atmosphere using the Schlenk-technique.

All **chemicals** and **solvents** were purchased from Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH, abcr GmbH, Acros Organics and were used without further purification. Deuterated solvents were acquired from Deutero GmbH. The anhydrous solvents dichloromethane, diethyl ether, dimethylacetamide (DMA), dimethylformamide (DMF), methanol and tetrahydrofuran were purchased from Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH in Sure/Seal™ bottles.

NMR spectra were recorded at room temperature on the following spectrometers with Bruker Avance III 400 MHz/500 MHz/600 MHz, Agilent DD2-400 MHz and Agilent DD2-600 MHz (ProbeOne NMR probe) for ¹H-NMR spectra, 128 MHz and 192 MHz for ¹¹B-NMR spectra, 101 MHz and 151 MHz for ¹³C-NMR spectra and 376 MHz for ¹⁹F-NMR spectra, respectively. Chemical shifts are reported in δ units relative to chloroform-*d* ($\delta_{\text{H}}=7.26$ ppm; $\delta_{\text{C}}=77.2$ ppm), methanol-*d*₄ ($\delta_{\text{H}}=3.31$ ppm; $\delta_{\text{C}}=49.0$ ppm) and acetonitrile-*d*₃ ($\delta_{\text{H}}=1.94$ ppm; $\delta_{\text{C}}=1.32$ ppm).^[344] Analyses followed first order and the following abbreviations were used throughout: s=singlet, d=doublet, t=triplet, dd=doublet of doublet etc., m=multiplet. Coupling constants (*J*) are given in Hz and refer to H, H-couplings. The ¹¹B-NMR experiments were carried out with Wilmad® quartz NMR tubes.

High Resolution Mass spectra (HR-MS) were carried out in the Institute for Organic Chemistry of the University of Heidelberg under the direction of Dr. Jürgen Gross and the Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf. The high-resolution mass spectra (HR-MS) were obtained with the electrospray ionization (ESI) as ionization method. The experiments were acquired with the spectrometer BrukerApexQe hybrid 9.4 T FT-ICR. Further measurements were obtained on a Q-TOF MS: Agilent 1260 Infinity II HPLC (Santa Clara, California, USA; pump G7111B, autosampler G7129A, column oven G7116N, UV detector G7717C, eluent MeCN/water acidified with 0.1% formic acid, bypass mode) coupled to UHD Accurate Mass Q-TOF LC MS G6538A. The molecule ions are reported as mass to charge (*m/z*) relation.

UV-Vis-NIR absorption spectra were recorded either on a NanoDrop ¹C instrument (AZY1706045) or on a spectrophotometer Specord 50 (Analytik Jena, Germany) from 300 nm to 800 nm in a quartz cuvette (1 cm path length). The measurements were carried out in

phosphate buffered saline solution (PBS), DMSO, methanol or deionized water containing ethanol (5%) at room temperature. The fluorescence quantum yields were performed with relative measurements using a reference dye according to the literature.^[345]

Nile Blue A in ethanol ($\Phi_F=0.27$) and $[\text{Ru}(\text{bipy})_3]\text{Cl}_2$ in water ($\Phi_F=0.042$) as reference standards were used for the determination of the quantum yields.^[238, 299] Fluorescence properties were determined using a Hitachi F-7100 FL (Minato-ku, Tokyo, Japan) spectrophotometer and the Perkin Elmer LS-55 fluorescence spectrophotometer from Perkin Elmer Inc. (Waltham, Massachusetts, USA) at room temperature. The excitation wavelength for the samples is account for 600 nm. The acquired data were analysed with OriginPro 2020 (64-bit) SR1.

Photostability experiments were investigated on a Perkin Elmer LS-55 fluorescence spectrometer by using the integrated laser and the irradiation of the samples (with concentrations between 1 μM and 5 μM of the samples in a quartz cuvette (1 cm path length) with a pulsed laser of the wavelength of 640 nm (20 kW, pulse width at half peak height < 10 μs) up to a maximum time of two hours. After several time points (10 min, 30 min, 1 h and 2 h) emission spectra were measured on the same device to determine the photostability of the corresponding dye. Alternatively the photostability of the dyes **73–77** were determined by measuring the decrease in absorption of the corresponding samples after irradiation with the Specord 50 (Analytik Jena, Germany) device described above.

Infrared spectra were conducted using the FT-IR-spectrometer Nicolet™ iS5 ATR from Thermo Scientific™ (Waltham, Massachusetts, USA) or were carried out with a FT-IR-spectrometer VERTEX 80/80v from Bruker. The samples were pressed with potassium bromide and were measured as transparent pellets. Alternatively the samples were measured in ATR modus with a ZnSe crystal. The spectra were measured in the range from 500 cm^{-1} to 4000 cm^{-1} and the relevant type of signals were indicated as very strong (vs), s (strong), w (weak) and br (broad).

Analytical Thin Layer Chromatography (TLC) was carried out on polygram-TLC-plates produced by Machery-Nagel (40x80 mm, SIL G/UV254, 0.2 mm layer thickness). Detection was carried out using UV-light (254 nm or 366 nm).

Flash column chromatography was carried out on silica gel (0.032–0.062 mm, produced by Macherey-Nagel) using manual techniques. Organic mobile phase mixtures of different solvents (hexanes/ethyl acetate, dichloromethane/methanol and chloroform/methanol) were used for purification.

High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) system was used for analytical purposes or semi-preparative purification:

- LaPrep P110 (VWR International, Radnor, USA) equipped with a variable DAD detector (P314, VWR) and the C₁₈ column from MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG (Nucleodur Sphinx® RP column VP250/21, 5 µm 250x21 mm). The following method was used for purification: 10–95% MeCN/H₂O, linear gradient in 32 minutes, with constant 0.1% v/v trifluoroacetic acid (TFA) additive and a flow rate of 20.0 mL/min (*system 1*).
- Knauer Smartline system (Knauer Wissenschaftliche Geräte GmbH, Berlin, Germany) equipped with a Smartline pump 1000, the degasser system Smartline manager 5000 with performance at room temperature, UV-Vis-NIR Smartline detector 2500 for wavelength detection at 254 nm and 650 nm and the C₁₈ column from Phenomenex (Gemini®, 5 µm, 110 Å, LC Column 250x4.6 mm). The purification was performed with the following systems: 10–90% MeCN/H₂O, linear gradient in 35 minutes, with constant 0.1% v/v TFA additive and a flow rate of 5.30 mL/min (*system 2*, 10–90%).
Alternatively the purification was carried out with a method using 30–90% MeCN/H₂O, linear gradient in 35 minutes, with constant 0.1% v/v TFA additive and a flow rate of 5.50 mL/min (*system 2*, 30–90%).
- Analytical HPLC analysis via Agilent 1100 series (Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, USA) equipped with the degasser system G1322A, G1311A-QuatPump-pump, G1313A-ALS autosampler and G1315B diode array detector for wavelength detection at 254 nm and the C₁₈ column from Merck KGaA (Chromolith® Performance, 2 µm, 130 Å, LC Column 100x4.6 mm). The analysis was performed with the following system: 10–100% MeCN/H₂O, linear gradient in 10 minutes, with constant 0.1% v/v TFA additive and a flow rate of 2.00 mL/min (*system 3*).
- Radio-HPLC analysis and purification of the technetium-99m radiolabeled Si-rhodamine **78** by using a semi-preparative Shimadzu HPLC20AR equipped with a binary gradient pump, SPD-20a/20a UV-Vis detector for wavelength detection at 220 nm and 254 nm, auto injector and the gamma Laura™ radio detector on a Gemini-NX C₁₈ column (7 µm, 110 Å, LC column 100x3 mm, AXIA™ packed). The HPLC was applied at room temperature using a method with 5–95% MeCN/H₂O, linear gradient in 20 minutes, with constant 0.1% v/v TFA as additive and a flow rate of 0.80 mL/min (*system 4*).
- Radio-HPLC purification of [¹⁸F]**103a** and [¹⁸F]**103b** were performed by using a semi-preparative Shimadzu prominence LC-20AR equipped with a LC-20AR binary gradient module, SIL-10AR sample manager, SPD-M20A PDA detector and gamma-detector

LB 500 Herm (Berthold Technologies, Germany). The purification was performed on a Nucleosil® 100-7 C₁₈ column (7 µm, 100 Å, LC column 250x16 mm). The data was processed with Labsolution Software V. 5.92. Further, the purification was carried out using an isocratic method with MeCN/H₂O+0.1% v/v TFA as additive in a ratio of 55:45 and a flow rate of 5 mL in 50 minutes (*system 5*).

- Radio-HPLC purification of [¹²³I]109 was carried out by using a semi-preparative Jasco LC-NetII/ADC interface equipped with a quaternary pump Jasco PU-2089 PLUS with a vacuum degasser, a Jasco UV-2075 detector (Jasco Corporation, Tokyo, Japan) and the gamma spectrometer GABI from Elysia-Raytest GmbH (Straubenhardt, Germany). The purification was performed on a Luna® C₁₈ column (10 µm, 100 Å, LC column 250x10 mm). The data was processed through Jasco ChromNAV Software. The purification was carried out using a linear gradient from 25–75% (or 45–95%) in 33 minutes, with constant 0.1% v/v TFA as additive and a flow rate of 4.00 mL/min (*system 6*).

(Ultra) High-Performance Liquid Chromatography (UHPLC/HPLC) system was used for analytical purposes: Shimadzu Nexera X2 UHPLC system (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) equipped with a dual pump LC-30AD, on-line degasser DGU-20A_{3R} and DGU-20A_{5R}, column oven CTO-20AC with two column switching valves FCV-14AH and a performance at 40 °C, the fluorescence detector RF-20A, an autosampler SIL-30AC, the photodiode array detector (PDA) for detection at wavelengths at 254 nm and 650 nm (SPD-M20A), the communication bus module CBM-20A and the gamma spectrometer GABI from Elysia-Raytest GmbH (Straubenhardt, Germany; detection of fluorine-18: 100–600 keV; detection of iodine-123: 100–200 keV). For the HPLC the analytical C₁₈ column Kinetex® from Phenomenex (5 µm, 100 Å, LC Column 250x4.6 mm) and for the UHPLC the analytical C₁₈ column Kinetex® (1.7 µm, 100 Å, LC Column 50x2.1 mm) were used.

- The analytical HPLC analysis was performed with the following systems: (*system 7*) using a linear gradient method with MeCN/H₂O+0.1% TFA at a flow rate of 1 mL/min (HPLC 25–75: $t_{0 \text{ min}25/75}$ – $t_{3 \text{ min}25/75}$ – $t_{28 \text{ min}75/25}$ – $t_{29 \text{ min}95/5}$ – $t_{34 \text{ min}95/5}$ – $t_{35 \text{ min}25/75}$ – $t_{40 \text{ min}25/75}$, total time: 40 min or HPLC 45–95: $t_{0 \text{ min}45/55}$ – $t_{3 \text{ min}45/55}$ – $t_{28 \text{ min}95/5}$ – $t_{34 \text{ min}95/5}$ – $t_{35 \text{ min}45/55}$ – $t_{40 \text{ min}45/55}$, total time: 40 min) or an isocratic mode (HPLC 55 iso: $t_{0 \text{ min}45/55}$ – $t_{15 \text{ min}45/55}$).
- The analytical UHPLC analysis was performed to determine the radiochemical conversions (RCCs) using a linear gradient method with MeCN/H₂O+0.1% TFA (UHPLC 25–75: $t_{0 \text{ min}25/75}$ – $t_{0.3 \text{ min}25/75}$ – $t_{4.0 \text{ min}75/25}$ – $t_{4.5 \text{ min}95/5}$ – $t_{5.5 \text{ min}95/5}$ – $t_{6.0 \text{ min}25/75}$ – $t_{7.5 \text{ min}25/75}$; total time: 7.5 min) at a flow rate of 0.5 mL/min.

- The molar activities and the stabilities in saline/human serum of [¹⁸F]103a and [¹⁸F]103b were determined with a HPLC method using an isocratic method with MeCN/H₂O+0.1% TFA in a ratio of 55:45 (*system 7*, HPLC 55 iso; total time: 15 min).

Melting points were determined on a Boetius hot microscope table (VEB Wägetechnik Rapido Radebeul/VEB Kombinat NAGEMA, Germany).

Chemical formulas were drawn with ChemDraw Professional 19.1.1.21

NMR data were analyzed with MestReNova 10.0.1-14719.

Radiolabeling with technetium-99m. Na[^{99m}TcO₄] was eluted using a solution of 0.9% saline (1.0 mL) obtained from a ⁹⁹Mo/^{99m}Tc sterile generator from Triad Isotopes (Triad Isotopes–Canton, MA).

Radiolabeling with fluorine-18. The [¹⁸F]KF was produced via a ¹⁸O(p, n)¹⁸F reaction by bombardment of enriched [¹⁸O]water with 18–30 MeV protons using a TR-Flex-Zyklotron (Advanced Cyclotron Systems Inc., ACSI, Canada) in the Helmholtz-Center Dresden-Rossendorf.^[346]

Radiolabeling with iodine-123. The non-carrier containing sodium [¹²³I]iodide (Na[¹²³I]) was produced in-house using a TR-Flex cyclotron (Advanced Cyclotron Systems Inc., ACSI, Canada) and the gas target KIPROS 200 from ZAG Zyklotron AG (Eggenstein-Leopoldshafen, Germany) by bombardment of highly enriched ¹²⁴Xe gas with 30 MeV protons via, amongst others, the nuclear reaction ¹²⁴Xe(p, pn)¹²³Xe→¹²³I.^[346] Concentration of the crude [¹²³I]iodide and formulation in 0.02 M aqueous sodium hydroxide was performed by ROTOP Pharmaka GmbH at the HZDR campus. Aliquots containing [¹²³I]iodide in an activity concentration between ca. 20–50 MBq/μL were used for further experiments and were diluted with sodium hydroxide (0.02 M) accordingly.

Radio-HPLC was performed using HPLC *systems* 4, 5, 6 and 7. Radio-TLC (DCM/MeOH 85:15) was carried out as described above and visualized using a Fuji BAS 2000® scanner system and was then evaluated using an image data analyzer (AIDA) software (Version 5.1 SP4, Raytest, Straubenhardt, Germany).

Confocal laser scanning microscopy was accomplished with the Olympus Fluoview™ 1000 confocal laser scanning microscope (Olympus Fluoview 1000, Melville, NY, USA) using a 60x (numerical aperture (NA) 1.35) oil objective. The confocal images were carried out using the standardized DAPI, Alexa Fluor 488 and Alexa Fluor 647 optical filters. The data were evaluated using the FV10-ASW software. The cell experiments (preparing PC-3 cells for cell

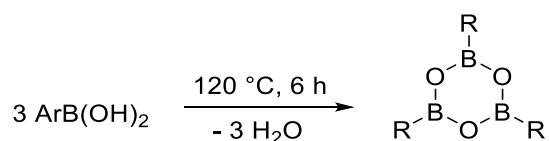
staining and confocal microscopy) were carried out under supervision of Johanna Wodtke (Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf, Institute for Radiopharmaceutical Cancer Research, Department of Radiopharmaceutical and Chemical Biology).

Fluorescent binding assays/*in vivo* experiments were carried by Dr. Cornelius Donat (Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf, Institute for Radiopharmaceutical Cancer Research, Department for Translational TME-Ligands). The evaluation of **134** was based on fluorescence on a Typhoon™ FLA 9500 (GE Healthcare, Boston, USA Biomolecular Imager GE Healthcare Bio-Sciences Corp., Marlborough, MA, USA) imaging system.

Syntheses procedures from 5.2.1 to 5.2.23 are based on published work in the form of bachelor, master and doctoral theses as well as peer-reviewed manuscripts.^[89, 195-198, 347-348]

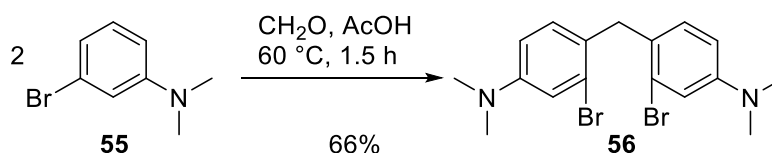
5.2 Syntheses

5.2.1 General Procedure: synthesis of boroxines^[157, 198]



The arylboronic acid (100 mg) was given into a lockable vial and was heated up to 120 °C for six hours at high vacuum. The obtained boroxines were added to the Suzuki-Miyaura coupling reactions without further purification and analytical characterization.

5.2.2 Synthesis of 4,4'-methylenebis(3-bromo-*N,N*-dimethylaniline) (**56**)^[153, 198]



3-Bromo-*N,N*-dimethylaniline (**55**) (10.0 g, 50.0 mmol, 1.0 eq.) was dissolved in glacial acetic acid (80 mL). Afterwards formaldehyde (37% in water, containing 10–15% methanol, 10.0 mL, 134 mmol, 2.7 eq.) was added to the colorless solution in one portion. The colorless solution was warmed up to 60 °C and was stirred for 1.5 hours. After complete conversion (monitored by normal phase TLC: *n*-hexane/ethyl acetate 95:5) the solution was allowed to cool to room temperature. The acetic acid was evaporated under reduced pressure. Then a saturated solution of sodium bicarbonate (20 mL) was carefully added to the reaction mixture and the

5. Experimental Section

brown solution was added to a separation funnel. The suspension was extracted with ethyl acetate (4x50 mL). Subsequently the combined organic phases were washed with a saturated solution of sodium chloride (brine). The combined organic phases were dried over sodium sulfate. After filtration, the solvent was removed under reduced pressure. The resulting crude product was purified by flash column chromatography (silica gel, *n*-hexane/ethyl acetate 95:5) to obtain 4,4'-methylenebis(3-bromo-*N,N*-dimethylaniline) (**56**) (6.81 g, 16.5 mmol, 66%) as a colorless solid.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 300 K):

δ (ppm)=6.97 (s, 2 H, H_{arom}), 6.86 (d, *J*=8.5 Hz, 2 H, H_{arom}), 6.62 (d, *J*=6.8 Hz, 2 H, H_{arom}), 4.01 (s, 2 H, CH₂), 2.92 (s, 12 H, CH₃).

¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃, 300 K):

δ (ppm)=150.1, 130.9, 127.2, 125.7, 116.4, 112.0, 40.7, 40.0.

IR (ATR, neat):

ν [cm⁻¹]=2882 (br), 2805 (br), 1607 (vs), 1544 (s), 1504 (vs).

R_f value (*n*-hexane/ethyl acetate: 95:5)=0.30.

Melting point: T=101–103 °C.

HR-ESI-MS in DCM/MeOH:

C ₁₇ H ₂₀ ⁷⁹ Br ⁸¹ BrN ₂	calculated <i>m/z</i>	found <i>m/z</i>
[M+H] ⁺	413.0046	413.0050

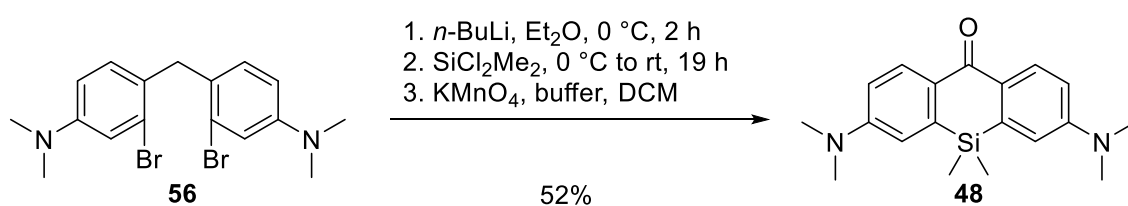
The analytical data are in accordance with the data from the literature.^[153, 200]

5.2.3 General procedure for the synthesis of Si-xanthones^[195, 197-198, 200]

The aniline **56** (1.50 g, 3.64 mmol, 1.0 eq.) was dissolved in a heat-dried round-bottom flask in anhydrous diethyl ether (80 mL) under an argon atmosphere. The solution was cooled down to 0 °C and *n*-BuLi (4.0 mL, 2.5 M in *n*-hexane, 10.2 mmol, 2.8 eq.) was added dropwise to the colorless solution. The color of the solution changed gradually to a bright yellow. Under vigorous stirring the solution was stirred for two hours at 0 °C. Afterwards the silane (1.0 eq.) was added dropwise via a syringe to the reaction mixture at 0 °C. After few minutes a colorless

precipitation was observed. The solution was allowed to warm up to room temperature and was stirred over night. After complete conversion (monitored by normal phase TLC: *n*-hexane/ethyl acetate 80:20) the pale yellow mixture was quenched with water (100 mL) and extracted with diethyl ether (3x200 mL). The combined organic phases were washed with brine and were dried over sodium sulfate. The benzylic oxidation was conducted using a procedure published by Bertozzi *et al.*^[201] The residual brown solid was dissolved in DCM (40 mL) and cooled down to 0 °C. Then a mixture of potassium permanganate (1.73 g, 10.9 mmol, 3.0 eq.) in water (50 mL), potassium hydroxide solution (1 M; 7.50 mL) and tetrabutylammonium bisulfate (510 mg, 1.50 mmol, 0.4 eq.) was freshly prepared in a beaker. The dark violet solution was carefully added to the blue solution at 0 °C. Afterwards the cooling bath was removed and the reaction mixture was stirred for further 30 minutes at room temperature. The solution was quenched by addition of acetic acid (7.50 mL) to the reaction mixture. Then sodium sulfite (2.85 g, 22.7 mmol, 6.0 eq.) was added in one portion as solid and the color of the solution changed immediately from brown to dark green. The reaction mixture was diluted with water (50 mL) and the organic phase was separated. The aqueous phase was extracted with ethyl acetate (3x100 mL) and then with DCM (3x150 mL). The combined organic phases were washed with brine and dried over sodium sulfate. After filtration, the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified by flash column chromatography (silica gel, *n*-hexane/ethyl acetate) to afford the Si-xanthenes **48** and **88** as yellow solids.

5.2.3.1 Synthesis of Si-xanthone **48**



The Si-xanthone **48** was synthesized from **56** (1.50 g, 3.64 mmol, 1.0 eq.) and dichlorodimethylsilane (470 mg, 3.64 mmol, 1.0 eq.) according to the general procedure 5.2.3. The Si-xanthone **48** was obtained after flash column chromatography (silica gel, *n*-hexane/ethyl acetate 95:5 to 60:40) as a yellow solid (614 mg, 1.89 mmol, 52%).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 300 K):

δ (ppm)=8.40 (d, *J*=9.0 Hz, 2 H, H_{arom}), 6.85 (d, *J*=2.1 Hz, 2 H, H_{arom}), 6.80 (dd, *J*=8.7 Hz, 2.6 Hz, 2 H, H_{arom}), 3.10 (s, 12 H, N-CH₃), 0.47 (s, 6 H, Si-CH₃).

5. Experimental Section

¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃, 300 K):

δ (ppm)=185.4, 151.5, 140.6, 131.8, 129.9, 114.4, 113.3, 40.2, -0.9.

IR (ATR, neat):

ν [cm⁻¹]=2949 (br, s), 2808 (br), 2635 (w), 1682 (s), 1573 (vs), 1505 (s).

R_f value (*n*-hexane/ethyl acetate: 8:2)=0.18.

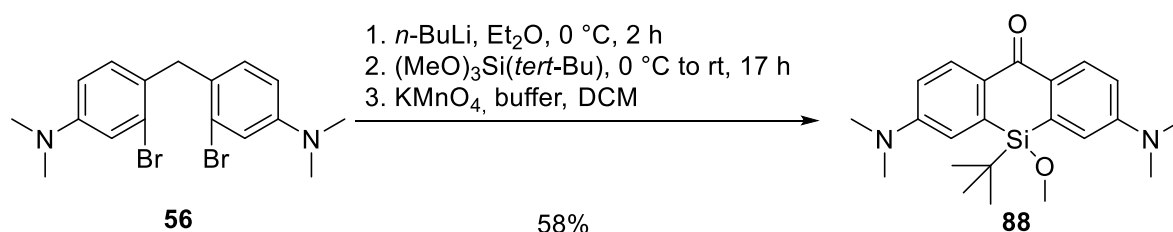
Melting point: T=221–223 °C.

HR-ESI-MS in DCM/MeOH:

C ₁₉ H ₂₄ N ₂ OSi	calculated <i>m/z</i>	found <i>m/z</i>
[2M+Na] ⁺	671.3208	671.3218

The analytical data are in accordance with the data from the literature.^[200]

5.2.3.2 Synthesis of Si-xanthone **88**



The Si-xanthone **88** was synthesized from **56** (1.50 g, 3.64 mmol, 1.0 eq.) and *tert*-butyltrimethoxysilane (649 mg, 3.64 mmol, 1.0 eq.) according to the general procedure 5.2.3. The Si-xanthone **88** was obtained after flash column chromatography (silica gel, *n*-hexane/ethyl acetate 95:5 to 85:15) as a yellow solid (808 mg, 2.11 mmol, 58%).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 300 K):

δ (ppm)=8.35 (d, *J*=8.9 Hz, 2H, H_{arom}), 6.92 (d, *J*=2.7 Hz, 2H, H_{arom}), 6.86 (dd, *J*=9.0 Hz, 2.8 Hz, 2H, H_{arom}), 3.47 (s, 3H, O-CH₃), 3.10 (s, 12H, N-CH₃), 0.92 (s, 9H, C(CH₃)₃).

¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃, 300 K):

δ (ppm)=185.6, 151.2, 135.5, 131.8, 131.7, 115.2, 113.2, 52.1, 40.2, 25.9, 18.4.

IR (ATR, neat):

ν [cm^{-1}]=2931 (br, m), 2854 (br, m), 2813 (w), 1578 (vs).

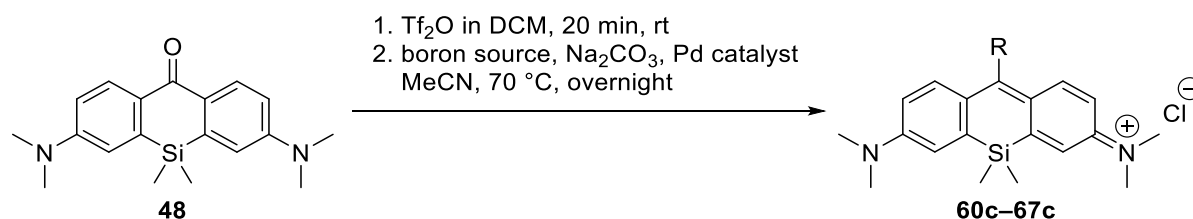
R_f value (*n*-hexane/ethyl acetate: 9:1)=0.39.

HR-ESI-MS in DCM/MeOH:

$\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_2\text{Si}_2$	calculated m/z	found m/z
$[\text{2M}+\text{Na}]^+$	787.4045	787.4042

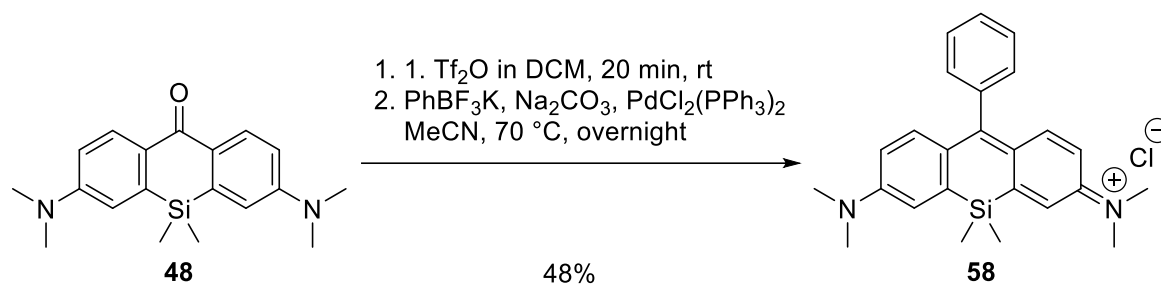
The chemical shifts from the ^1H - and ^{13}C -NMR spectra are in accordance with internal data.^[195-197]

5.2.4 Suzuki–Miyaura cross coupling reactions – General Procedure^[198]



Si-xanthone **48** (1.0 eq.) was dissolved in a heat-dried flask in anhydrous dichloromethane (DCM) under an argon atmosphere. Trifluoromethanesulfonic anhydride (Tf_2O , 1.1 eq., 1 M in DCM) was added to the solution under vigorous stirring. Immediately an intense color change from yellow to dark blue arised. After 20 minutes of stirring at room temperature the solvent was removed under reduced pressure. The boron source (1.1 eq.), the palladium catalyst (0.1 eq.), and sodium carbonate (3.0 eq.) were added as solids to the blue residue. Afterwards the solids were suspended in anhydrous acetonitrile. The dark blue solution was warmed up to 70 °C and was stirred overnight. After the reaction time the solution was allowed to cool down to room temperature. The solvent was removed under reduced pressure and was redissolved in DCM. The blue solution was filtrated over a short pad of Celite[®]. Deionized water was added to the filtrate and the solution was transferred into a separation funnel. The organic phase was separated. The aqueous phase was extracted DCM (3x150 mL). The combined organic phases were washed with brine and dried over sodium sulfate. After filtration, the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified by flash column chromatography (silica gel, dichloromethane/methanol) to afford the Si-rhodamines as intense blue solids.

5.2.4.1 Synthesis of Si-rhodamine 58



The synthesis was conducted as described in the general procedure 5.2.4. The Si-xanthone **48** (50 mg, 154 μmol , 1.0 eq.) was treated with trifluoromethanesulfonic anhydride (170 μL , 170 μmol , 1 M in DCM, 1.1 eq.) in DCM (1 mL). Potassium phenyltrifluoroborate (28 mg, 154 μmol , 1.0 eq.) as boron source, bis(triphenylphosphine)palladium(II) dichloride (11 mg, 15.4 μmol , 0.1 eq.) and sodium carbonate (50 mg, 462 μmol , 3.0 eq.) were suspended in anhydrous acetonitrile (2 mL). Si-rhodamine **58** (31 mg, 74 μmol , 48%) was obtained as a blue solid after purification by column chromatography (silica gel, DCM/MeOH 99:1 to 90:10).

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD , 300 K):

δ (ppm)=7.61–7.58 (m, 3 H, H_{arom}), 7.36 (d, $J=2.7$ Hz, 2 H, H_{arom}), 7.30–7.27 (m, 2 H, H_{arom}), 7.16 (d, $J=9.6$ Hz, 2 H, H_{arom}), 6.77 (dd, $J=9.6$ Hz, 2.8 Hz, 2 H, H_{arom}), 3.34 (s, 12 H, N- CH_3), 0.60 (s, 6 H, Si- CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CD_3OD , 300 K):

δ (ppm)=171.0, 155.6, 149.6, 143.2, 140.6, 130.4, 129.8, 129.3, 129.0, 122.2, 114.9, 40.9, -1.1.

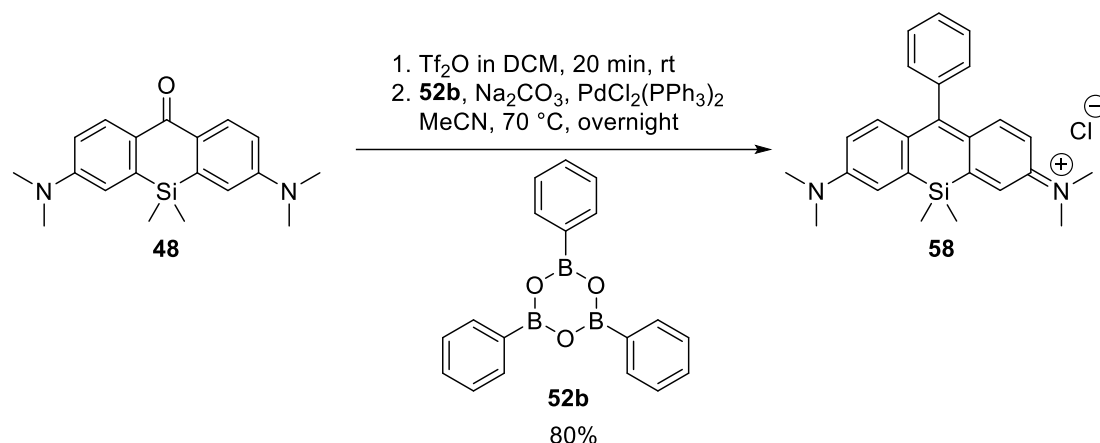
R_f value (DCM/MeOH 9:1)=0.53.

HR-ESI-MS in DCM/MeOH:

$\text{C}_{25}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{Si}^+$	calculated m/z	found m/z
$[\text{M}]^+$	385.2095	385.2100

The analytical data are in accordance with the data from the literature.^[150-151]

5.2.4.2 Synthesis of Si-rhodamine 58



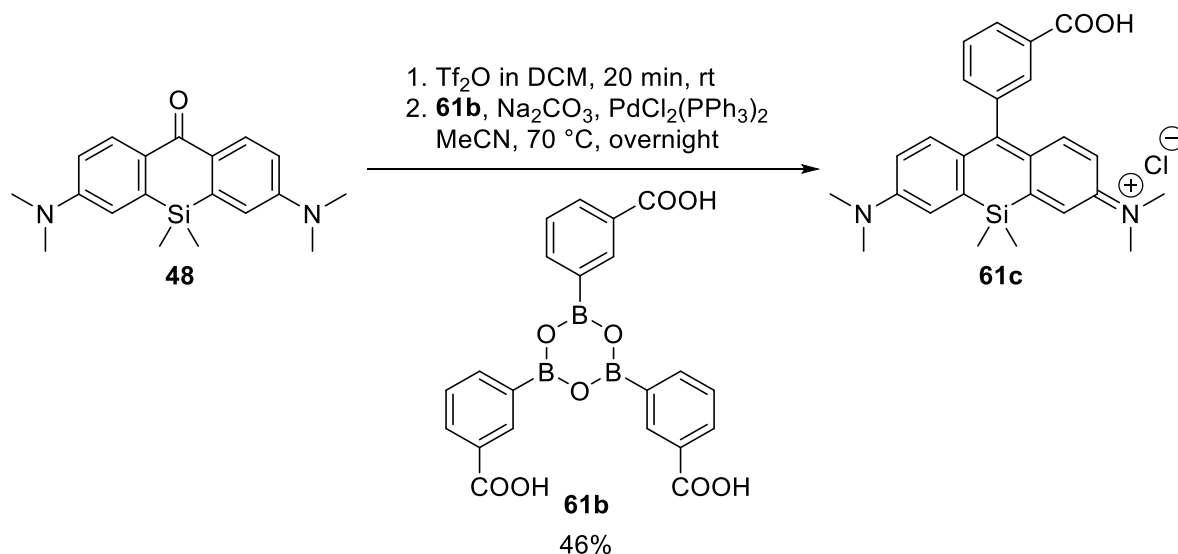
The synthesis was conducted as described in the general procedure 5.2.4. Si-xanthone **48** (50 mg, 154 μmol , 1.0 eq.) was treated with trifluoromethanesulfonic anhydride (170 μL , 170 μmol , 1 M in DCM, 1.1 eq.) in DCM (1 mL). Phenylboroxine **52b** (48.1 mg, 154 μmol , 1.0 eq.) as boron source, bis(triphenylphosphine)palladium(II) dichloride (11 mg, 15.4 μmol , 0.1 eq.) and sodium carbonate (49 mg, 462 μmol , 3.0 eq.) were suspended in anhydrous acetonitrile (2 mL). Si-rhodamine **58** was obtained as a blue solid in 49%^a yield (52 mg, 123 μmol , 80%^a brsm) after purification by column chromatography (silica gel, DCM/MeOH 99:1 to 90:10).

^acorrected yield, under the consideration of the impurification with $[\text{PPh}_4]^+$.

Using the same procedure 5.2.4 and tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0) (17.7 mg, 15.4 μmol , 0.1 eq) as a catalyst provided rhodamine **58** in 39%^a yield (53.2 mg, 126 μmol , 82% brsm).

Using the same procedure 5.2.4 and [1,1'-bis(diphenylphosphino)ferrocene]dichloropalladium(II) (13.0 mg, 15.9 μmol , 0.1 eq) as a catalyst provided rhodamine **58** in 67% yield (47.3 mg, 112 μmol , 73% brsm) without impurification.

The analytical data are in accordance with the data from the literature.^[150-151]

5.2.4.3 Synthesis of Si-rhodamine **61c**

The synthesis was conducted as described in the general procedure 5.2.4. Si-xanthone **48** (50 mg, 154 μmol , 1.0 eq.) was treated with trifluoromethanesulfonic anhydride (170 μL , 170 μmol , 1 M in DCM, 1.1 eq.) in DCM (1 mL). Boroxine **61b** (73.0 mg, 154 μmol , 1.0 eq.) as boron source, bis(triphenylphosphine)palladium(II) dichloride (11 mg, 15.9 μmol , 0.1 eq.), sodium carbonate (49 mg, 462 μmol , 3.0 eq.) were suspended in anhydrous acetonitrile (2 mL). Si-rhodamine **61c** was obtained as a blue solid in 5%^a yield (22.4 mg, 48.2 μmol , 46%^a brsm) after purification via column chromatography (silica gel, DCM/MeOH 99:1 to 80:20).
^acorrected yield, under the consideration of the impurification with $[\text{PPh}_3(\text{Ph-COOH})]^+$.

Using the same procedure 5.2.4 and [1,1'-bis(diphenylphosphino)ferrocene]dichloropalladium(II) (13.0 mg, 15.9 μmol , 0.1 eq.) as a catalyst provided rhodamine **61c** in 31% yield (40.1 mg, 86.2 μmol , 56% brsm) after purification by column chromatography (silica gel, chloroform/MeOH 99:1 to 80:20).

¹H-NMR (600 MHz, CD_3OD , 300 K):

δ (ppm)=8.22 (d, $J=7.2$ Hz, 1 H, H_{arom}), 7.88 (s, 1 H, H_{arom}), 7.70 (d, $J=7.7$ Hz, 1 H, H_{arom}), 7.52 (d, $J=7.5$ Hz, 1 H, H_{arom}), 7.38 (d, $J=2.8$ Hz, 2 H, H_{arom}), 7.08 (d, $J=9.7$ Hz, 2 H, H_{arom}), 6.79 (d, $J=8.7$ Hz, 2 H, H_{arom}), 3.35 (s, 12 H, N- CH_3), 0.61 (s, 6 H, Si- CH_3).

¹³C-NMR (151 MHz, CD_3OD , 300 K):

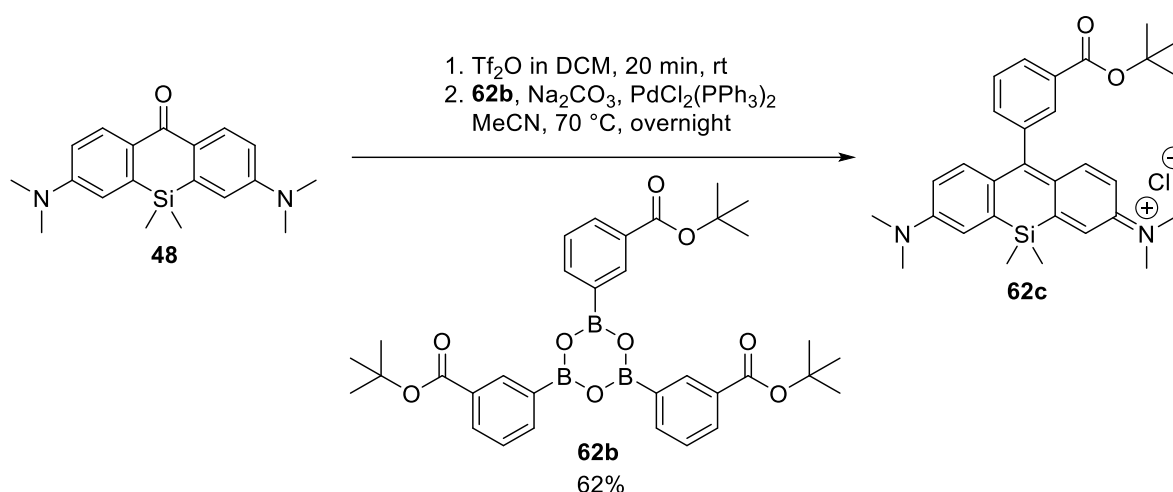
δ (ppm)=185.4, 168.9, 155.7, 149.6, 142.9, 140.9, 134.7, 132.2, 131.3, 130.9, 129.7, 128.8, 122.4, 115.1, 40.9, -1.1.

R_f value (DCM/MeOH 9:1)=0.53.

HR-ESI-MS in DCM/MeOH:

$C_{26}H_{29}N_2O_2Si^+$	calculated m/z	found m/z
$[M]^+$	429.1993	429.1996

5.2.4.4 Synthesis of Si-rhodamine **62c**



The synthesis was conducted as described in the general procedure 5.2.4. Si-xanthone **48** (50 mg, 154 μ mol, 1.0 eq.) was treated with trifluoromethanesulfonic anhydride (170 μ L, 170 μ mol, 1 M in DCM, 1.1 eq.) in DCM (1 mL). Boroxine **62b** (94 mg, 154 μ mol, 1 eq.) as boron source, bis(triphenylphosphine)palladium(II) dichloride (12 mg, 154 μ mol, 0.1 eq.), and sodium carbonate (49 mg, 462 μ mol, 3.0 eq.) were suspended in anhydrous acetonitrile (2 mL). Si-rhodamine **62c** was obtained as a blue solid in 43%^a yield (50 mg, 95.5 μ mol, 62%^a brsm) after purification by column chromatography (silica gel, DCM/MeOH 99:1 to 90:10).
^acorrected yield, under the consideration of the impurification with $[PPh_3(Ph-COO^{tert}Bu)]^+$.

Using the same procedure 2.5 and [1,1'-bis(diphenylphosphino)ferrocene]dichloropalladium(II) (11.2 mg, 15.4 μ mol, 0.1 eq.) as a catalyst provided rhodamine **62c** in 53% yield (53.0 mg, 102 μ mol, 66% brsm).

¹H-NMR (600 MHz, CD_3OD , 300 K):

δ (ppm)=7.51–7.50 (m, 2 H, H_{arom}), 7.36 (d, $J=2.8$ Hz, 2 H, H_{arom}), 7.21 (s, 1 H, H_{arom}), 7.18–7.15 (m, 3 H, H_{arom}), 6.78–6.75 (m, 2 H, H_{arom}), 3.34 (s, 12 H, N- CH_3), 0.94 (s, 9 H, C(CH_3)₃), 0.60 (s, 6 H, Si- CH_3).

¹³C-NMR (151 MHz, CD₃OD, 300 K):

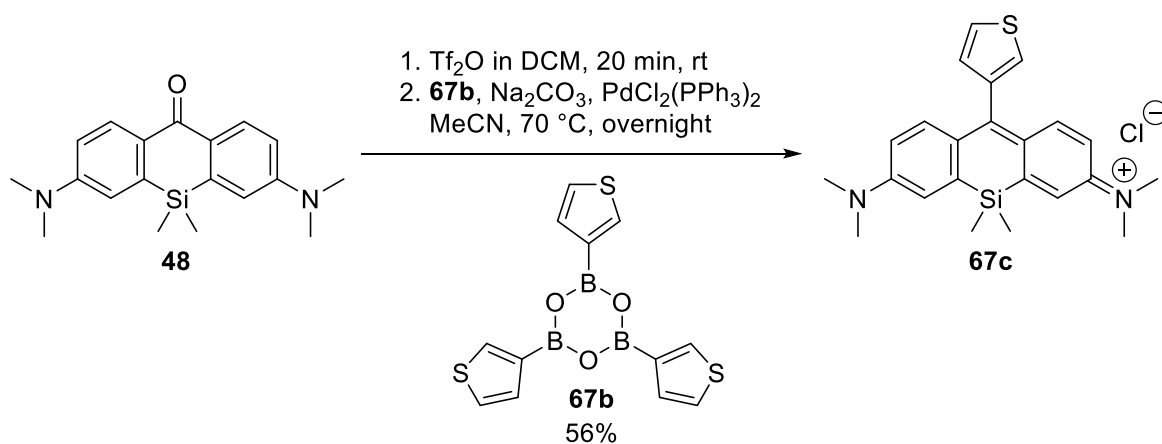
δ (ppm)=181.3, 162.3, 155.7, 152.0, 151.7, 143.3, 139.7, 136.5, 129.7, 129.3, 128.9, 128.2, 122.1, 114.8, 40.9, 36.7, 26.6, -1.1.

R_f value (DCM/MeOH 9:1)=0.37.

HR-ESI-MS in DCM/MeOH:

C ₃₀ H ₃₇ N ₂ O ₂ Si ⁺	calculated <i>m/z</i>	found <i>m/z</i>
[M] ⁺	485.2619	485.2620

5.2.4.5 Synthesis of Si-rhodamine 67c



The synthesis was conducted as described in the general procedure 5.2.4. Si-xanthone **48** (30 mg, 92.5 μmol, 1 eq.) was treated with trifluoromethanesulfonic anhydride (102 μL, 102 μmol, 1 M in DCM, 1.1 eq.) in DCM (2 mL). Thienylboroxine **67b** (31 mg, 92.5 μmol, 1 eq.) as boron source, bis(triphenylphosphine)palladium(II) dichloride (6.5 mg, 9.25 μmol, 0.1 eq.), and sodium carbonate (29.4 mg, 278 μmol, 3 eq.) were added and suspended in anhydrous acetonitrile (2 mL). Si-rhodamine **67c** was obtained as a blue solid in 37%^a yield (20 mg, 51.6 μmol, 56%^a brsm) after purification by column chromatography (silica gel, chloroform/MeOH 99:1 to 88:12).

^acorrected yield, under the consideration of the impurification with [PPh₃(3-thienyl)]⁺.

Using the same procedure 5.2.4 and [1,1'-bis(diphenylphosphino)ferrocene]dichloropalladium(II) (6.80 mg, 9.25 μmol, 0.1 eq.) as a catalyst afforded rhodamine **67c** in 91% yield (35.9 mg, 84.2 μmol).

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD, 400 K):

δ (ppm)=7.70 (dd, *J*=4.9 Hz, 3.0 Hz, 1 H, H_{arom}), 6.46 (dd, *J*=3.0 Hz, 1.3 Hz, 1 H, H_{arom}), 7.34 (d, *J*=2.9 Hz, 2 H, H_{arom}), 7.30 (d, *J*=9.7 Hz, 2 H, H_{arom}), 7.13 (dd, *J*=4.9 Hz, 1.3 Hz, 1 H, H_{arom}), 6.81 (dd, *J*=9.7 Hz, 2.9 Hz, 2 H, H_{arom}), 3.35 (s, 12 H, N-CH₃), 0.59 (s, 6 H, Si-CH₃).

¹³C-NMR (400 MHz, CD₃OD, 300 K):

δ (ppm)=155.7, 149.6, 143.3, 131.8, 130.4, 129.8, 129.3, 129.0, 122.1, 116.4, 114.9, 40.9, -1.1.

R_f value (DCM/MeOH 9:1)=0.47.

HR-ESI-MS in DCM/MeOH:

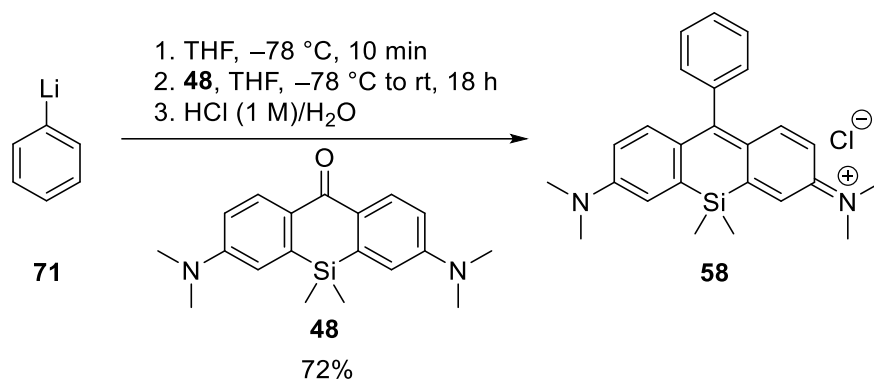
C₂₃H₂₇N₂SSi⁺	calculated <i>m/z</i>	found <i>m/z</i>
[M] ⁺	391.1659	391.1664

5.2.5 The general synthesis of Si-rhodamines 58, 62c and 67c via lithium-halogen exchange reactions^[153]

The following experimental procedures were carried out under modified conditions based on literature.^[150, 153] The phenyl lithium **71** (1.9 M in dibutyl ether, 1.2 eq.) or the aryl bromides **72** and **73** (7 eq.) were dissolved in anhydrous THF (2.0 mL) under an argon atmosphere. The solution was cooled down to -78 °C. Then *tert*-butyllithium (1.6 M in pentane, 14 eq.) was carefully added dropwise to the solution, containing the aryl bromide. *CAUTION: solutions of tert-butyllithium react explosively with water and may ignite in moist air.* Afterwards the red solution was stirred for 30 minutes (or five minutes for the reaction with the phenyl lithium) at -78 °C. Afterwards the Si-xanthone **48** (1 eq.) in anhydrous THF (2.5 mL) was added dropwise via a syringe to the reaction mixture at -78 °C. The color of the solution turned to a orange color. After addition, the cooling bath was removed and the orange solution was stirred for another four hours at room temperature. After complete conversion (monitored by normal phase TLC: DCM/MeOH 9:1) the solvents were removed under reduced pressure and a solution of hydrochloride acid (1 M) was added to the brown residue and the solution became dark blue. The blue solution was diluted with deionized water (50 mL) and thereafter the solution was extracted with DCM (3x150 mL) until the aqueous solution became nearly colorless. The combined organic phases were washed with brine and were dried over sodium sulfate. After filtration, the solvent was removed under reduced pressure. Finally, the blue

crude products were purified by flash column chromatography (silica gel, DCM/MeOH 99:1 to 90:10) to afford the Si-rhodamines as dark blue solids.

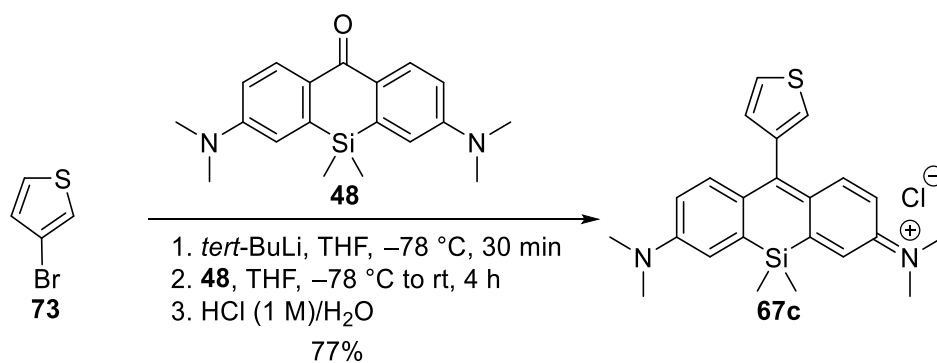
5.2.5.1 Synthesis of Si-rhodamine 58



The Si-rhodamine **58** was synthesized by using phenyl lithium (**71**, 1.9 M in dibutyl ether, 341 μL , 648 μmol , 7.0 eq.) and Si-xanthone **48** (30 mg, 92.5 μmol , 1.0 eq.) according to the general procedure 5.2.5. **58** was obtained as a dark blue solid after column chromatography (28 mg, 66.4 μmol , 72%).

The analytical data are equivalent to the data obtained from procedure 5.2.4.2.

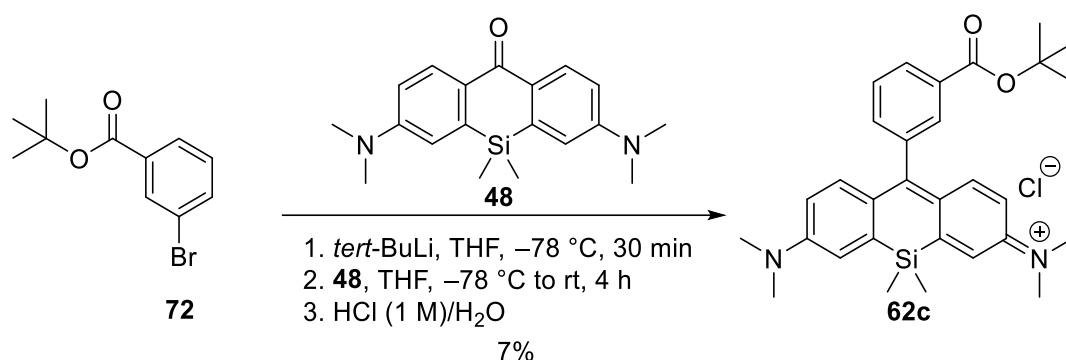
5.2.5.2 Synthesis of Si-rhodamine 67c



The Si-rhodamine **67c** was synthesized from 3-bromothiophene (88.0 mg, 540 μmol , 7 eq.), *tert*-butyllithium (1.7 M in pentane, 635 μL , 1.08 mmol, 14 eq.) and Si-xanthone **48** (25.0 mg, 77.1 μmol , 1.0 eq.) according to the general procedure 5.2.5 to afford the Si-rhodamine **67c** as a dark blue solid after column chromatography (25.4 mg, 59.5 μmol , 77%).

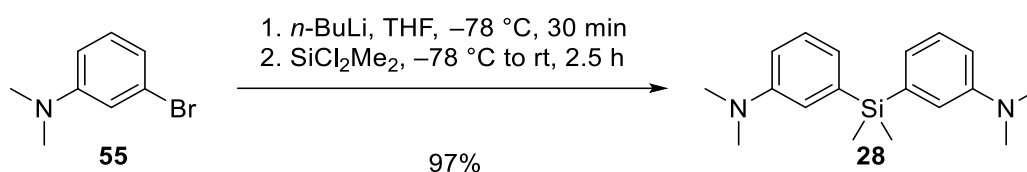
The analytical data are equivalent to the data obtained from procedure 5.2.4.5.

5.2.5.3 Synthesis of Si-rhodamine 62c



The Si-rhodamine **62c** was synthesized from *tert*-butyl 3-benzoate (444 mg, 1.73 mmol, 7 eq.), *tert*-butyllithium (1.7 M in pentane, 2.03 mL, 3.46 mmol, 14 eq.) and Si-xanthone **48** (80.0 mg, 247 μmol , 1.0 eq.) according to the general procedure 5.2.5 to afford the Si-rhodamine **62c** as a dark blue solid (6.00 mg, 11.5 μmol , 7%).

The analytical data are equivalent to the data obtained from procedure 5.2.4.4.

5.2.6 Synthesis of 3,3'-(dimethylsilanediyl)bis(*N,N*-dimethylaniline) (**28**)^[150]

3-Bromo-*N,N*-dimethylaniline (**55**) (5.00 g, 25.0 mmol, 2.4 eq.) was dissolved in anhydrous THF (50 mL). The slightly yellow colored solution was cooled down to $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Afterwards *n*-BuLi (10.0 mL, 2.5 M in *n*-hexane, 25.0 mmol, 2.4 eq.) was added dropwise to the solution at $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. A gradually formed colorless precipitation was observed. The beige solution was stirred for further 30 minutes at $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Then dimethyldichlorosilane (1.34 g, 10.4 mmol, 1.0 eq.) in anhydrous THF (5 mL) was added dropwise via a syringe into the solution at $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. The yellow reaction mixture was slowly allowed to warm to room temperature and was stirred for 1.5 hours. After complete conversion (monitored by normal phase TLC: *n*-hexane/ethyl acetate 9:1) the solution was diluted with deionized water (100 mL) and ethyl acetate (300 mL). Afterwards the organic phase was separated and kept. The aqueous phase was extracted with ethyl acetate (3x100 mL) and then the combined organic phases were washed with a saturated solution of brine. Then the combined organic phases were dried over sodium sulfate and filtered off. The solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified by flash column chromatography (silica gel, *n*-hexane/ethyl acetate 95:5 to 90:10)

5. Experimental Section

to afford 3,3'-(dimethylsilanediyl)bis(*N,N*-dimethylaniline) (**28**) (3.02 g, 10.1 mmol, 97%) as a colorless solid.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 300 K):

δ (ppm)=7.24 (td, *J*=8.4 Hz, 3.0 Hz, 2 H, H_{arom}), 7.00–6.88 (m, 4 H, H_{arom}), 6.77 (d, *J*=7.8 Hz, 2 H, H_{arom}), 2.92 (s, 12 H, N-CH₃), 0.52 (s, 6 H, Si-CH₃).

¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃, 300 K):

δ (ppm)=150.0, 139.1, 128.6, 123.0, 118.6, 113.8, 40.9, -2.0.

IR (ATR, neat):

ν [cm⁻¹]=3035 (br, w), 2953 (br, m), 2879 (br, m), 2797 (br, m), 1585 (vs), 1563 (vs).

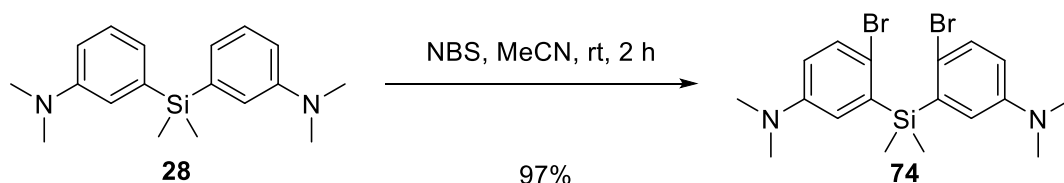
R_f value (*n*-hexane/ethyl acetate: 95:5)=0.32.

HR-ESI-MS in DCM/MeOH:

C ₁₈ H ₂₆ N ₂ Si	calculated <i>m/z</i>	found <i>m/z</i>
[M+H] ⁺	299.1938	299.1937

The analytical data are in accordance with the data from the literature.^[150-151]

5.2.7 Synthesis of 3,3'-(dimethylsilanediyl)bis(4-bromo-*N,N*-dimethylaniline) (**74**)^[140]



3,3'-(dimethylsilanediyl)bis(*N,N*-dimethylaniline) (**28**) (2.97 g, 9.94 mmol, 1 eq.) was dissolved in anhydrous acetonitrile (60 mL) under an argon atmosphere. The colorless solution was cooled down to -78 °C. Then *N*-bromosuccinimide (3.54 g, 19.9 mmol, 2.0 eq.) was added to the colorless solution in portions. The brownish solution was stirred at room temperature for two hours. After complete conversion (monitored by normal phase TLC: *n*-hexane/ethyl acetate 9:1) the solvent was evaporated under reduced pressure. Afterwards the residue was redissolved in ethyl acetate (200 mL) and then deionized water (50 mL) was added. The organic phase was separated and the aqueous phase was extracted with ethyl acetate

(3x50 mL). The combined organic phases were washed with a saturated solution of brine and then the organic phase was dried over sodium sulfate and filtered off. The solvent was removed under reduced pressure. The solid crude product was purified by flash column chromatography (silica gel, *n*-hexane/ethyl acetate 95:5 to 90:10) to afford 3,3'-(dimethylsilanediyl)bis(4-bromo-*N,N*-dimethylaniline) (**74**) (4.40 g, 9.64 mmol, 97%) as a purple solid.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 300 K):

δ (ppm)=7.36 (d, *J*=8.8 Hz, 2 H, H_{arom}), 6.91–6.80 (m, 2 H, H_{arom}), 6.69–6.57 (m, 2 H, H_{arom}), 2.88 (s, 12 H, N-CH₃), 0.76 (s, 6 H, Si-CH₃).

¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃, 300 K):

δ (ppm)=149.1, 138.9, 133.2, 122.1, 117.3, 115.6, 40.8, -0.8.

IR (ATR, neat):

ν [cm⁻¹]=3068 (w), 2974 (br, m), 2947 (br, m), 2888 (br, m), 2798 (br, m), 1578 (vs), 1550 (vs).

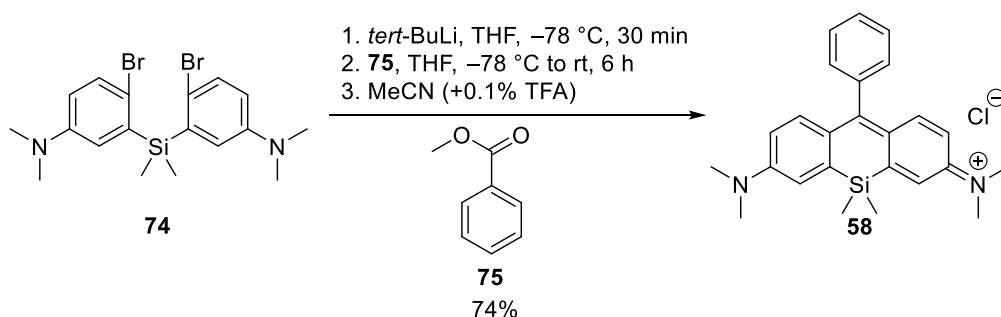
R_f value (*n*-hexane/ethyl acetate: 9:1)=0.12.

HR-ESI-MS in DCM/MeOH:

C ₁₈ H ₂₄ ⁷⁹ Br ⁸¹ BrN ₂ Si	calculated <i>m/z</i>	found <i>m/z</i>
[M+H] ⁺	457.0128	457.0128
[M+Na] ⁺	478.9948	478.9947

The analytical data are in accordance with the data from the literature.^[150-151]

5.2.8 Synthesis of Si-rhodamine **58**^[140]



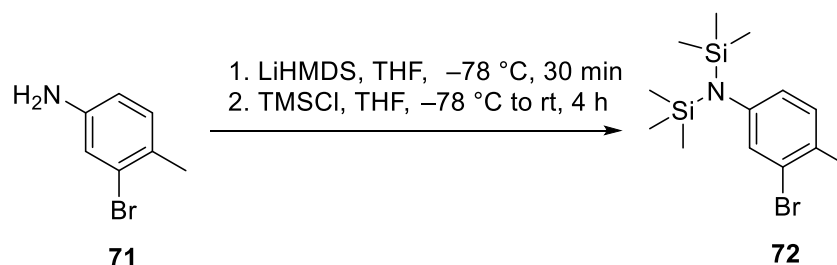
The dibromide **74** (50 mg, 110 μmol, 1 eq.) was dissolved in anhydrous THF (2.5 mL) under an argon atmosphere. The slightly pink solution was cooled down to -78 °C. Then *tert*-

5. Experimental Section

butyllithium (1.6 M in pentane, 1.18 mL, 1.89 mmol, 8.2 eq.) was carefully added dropwise to the solution. *CAUTION: solutions of tert-butyllithium react explosively with water and may ignite in moist air.* Afterwards the red solution was stirred for 30 minutes at $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Then the benzoic acid methyl ester (**75**) (32.8 mg, 241 μmol , 2.2 eq.) in anhydrous THF (2.5 mL) was added dropwise via a syringe to the reaction mixture at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. The color of the solution turned to a red color. After five minutes, the cooling bath was removed and the red solution was stirred for further six hours at room temperature. Subsequently the solvents were removed under reduced pressure. To the orange residue was added acetonitrile+0.1% TFA (1 mL) and the solution became immediately dark blue. The blue solution was diluted with deionized water (50 mL). The dark solution was extracted with DCM (3x100 mL) until the aqueous solution became nearly colorless. The combined organic phases were washed with brine and were dried over sodium sulfate. After filtration, the solvent was removed under reduced pressure. Then the blue crude product was purified by flash column chromatography (silica gel, DCM/MeOH 99:1 to 91:9) to afford the Si-rhodamine **58** (34.3 mg, 81.4 μmol , 74%) as a dark blue solid.

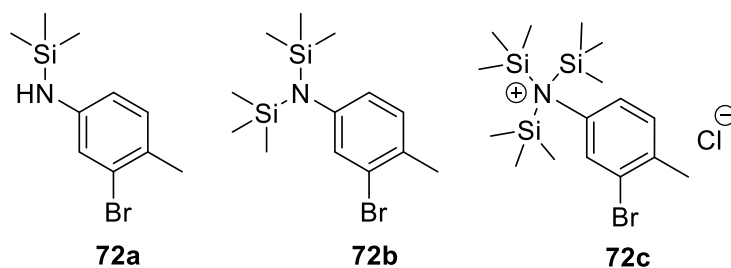
The analytical data is equivalent to the data obtained from procedure 5.2.4.2.

5.2.9 Synthesis of 3-bromo-4-methyl-*N,N*-bis(trimethylsilyl)aniline (**72**)^[200, 347]



3-bromo-4-methylaniline (**71**) (390 mg, 2.09 mmol, 1.0 eq.) was dissolved in a heat-dried round-bottom flask in anhydrous THF (80 mL) under an argon atmosphere. The colorless solution was cooled down to $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ and lithiumbis(trimethylsilyl)amide (LiHMDS) (1 M in THF, 4.40 mL, 4.39 mmol, 2.1 eq.) was added dropwise to the solution. After complete addition of the base the dark brown solution was stirred for 10 minutes at $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Afterwards the cooling bath was removed for five minutes to warrant complete deprotonation, before cooling down to $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ again. Then trimethylsilyl chloride (477 mg, 4.39 mmol, 2.1 eq.) was added dropwise via a syringe to the dark yellow solution. After complete addition the reaction mixture was allowed to warm up and was stirred for further four hours at room temperature under an argon atmosphere. The solvent was removed under reduced pressure and then the brown oil was redissolved in anhydrous *n*-hexane (50 mL). After filtration, the solvent was removed under reduced pressure and the resulting brown oil was used without further purification in the next

reaction step. The ^1H - and ^{13}C -NMR analysis of the oil indicated a mixture of mono-**72a** (151 mg, 585 μmol , 28%), di-**72b** (387 mg, 1.17 mmol, 56%) and tri-**72c** (147 mg, 334 μmol , 16%) TMS-substituted anilines **72a/72b/72c** in a ratio of 7:14:4 (analyzed by ^1H -NMR).



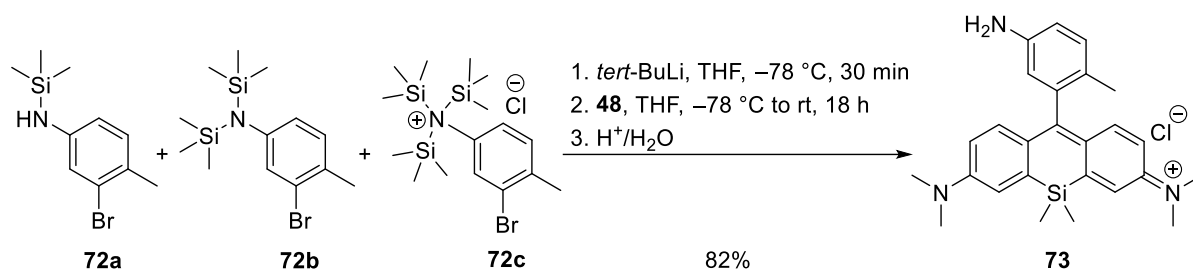
^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3 , 300 K):

δ (ppm)=7.09 (d, $J=2.2$ Hz, 2 H), 7.05 (d, $J=8.0$ Hz, 2 H), 6.97 (d, $J=8.0$ Hz, 1 H), 6.86 (d, $J=2.5$ Hz, 1 H), 6.73 (dd, $J=8.0$ Hz, 2.2 Hz, 2 H), 6.52 (dd, $J=8.2$ Hz, 2.5 Hz, 1 H), 2.35 (s, 6 H), 2.27 (s, 3H), 0.27 (s, Si- CH_3 , 9 H), 0.07 (s, Si- CH_3 , 36 H).

^{13}C -NMR (101 MHz, CDCl_3 , 300 K):

δ (ppm)=147.1, 146.6, 133.6, 132.9, 131.1, 130.4, 129.2, 126.3, 125.4, 124.2, 119.8, 115.3, 22.3, 21.8, 2.2.

5.2.10 Synthesis of Si-rhodamine **73**^[200]



The mixture of TMS-protected anilines **72** (776 mg, 2.44 mmol, 7.3 eq.) were dissolved in anhydrous tetrahydrofuran (2 mL) in a heat-dried round-bottom flask under an argon atmosphere. The brown solution was cooled down to -78 $^{\circ}\text{C}$ and was stirred for 10 minutes at this temperature. At -78 $^{\circ}\text{C}$ *tert*-butyllithium (1.7 M in pentane, 2.80 mL, 4.76 mmol, 14.2 eq.) was added dropwise to the solution. *CAUTION: solutions of tert-butyllithium react explosively with water and may ignite in moist air.* The orange solution was stirred for 30 minutes at -78 $^{\circ}\text{C}$. Subsequently the Si-xanthone **48** (100 mg, 336 μmol , 1.0 eq.) dissolved in anhydrous tetrahydrofuran (10 mL) was added via a syringe to the reaction mixture at -78 $^{\circ}\text{C}$. The color of the solution turned to a bright orange. After full addition the reaction mixture was allowed to warm up to room temperature and then the solution was stirred overnight. After full conversion (monitored by normal phase TLC: DCM/MeOH 9:1) the solution was treated

5. Experimental Section

with hydrochloric acid (1 M, 5 mL). The color of the solution changed from orange over a green to a dark blue finally within minutes. The solution was diluted with DCM (100 mL) and the organic phase was separated. The aqueous phase was extracted with DCM (5x50 mL). The combined organic phases were washed with brine and dried over sodium sulfate. After filtration, the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified by flash column chromatography (silica gel, DCM/MeOH 99:1 to 88:12). The concentrated and combined fractions from the column were filtrated over cotton wool and Si-rhodamine **73** (124 mg, 276 μ mol, 82%) was afforded as a gleaming dark blue solid.

¹H-NMR (400 MHz, MeOD-*d*₄, 300 K):

δ (ppm)=7.34 (d, *J*=2.8 Hz, 2 H, H_{arom}), 7.25 (d, *J*=9.6 Hz, 2 H, H_{arom}), 7.10 (d, *J*=8.2 Hz, 1 H, H_{arom}), 6.83–6.77 (m, 3 H, H_{arom}), 6.51 (d, *J*=2.4 Hz, 1 H, H_{arom}), 3.35 (s, 12 H, N-CH₃), 1.87 (s, 3 H, CH₃), 0.60 (s, 3 H, Si-CH₃), 0.59 (s, 3 H, Si-CH₃).

¹³C-NMR (101 MHz, MeOD-*d*₄, 300 K):

δ (ppm)=172.1, 155.8, 149.5, 146.7, 142.7, 140.5, 131.9, 128.5, 125.6, 121.9, 117.0, 117.0, 115.0, 40.9, 18.4, -1.1, -1.3.

IR (KBr):

ν [cm⁻¹]=3430 (br), 2937 (br), 2861 (br), 2810 (br), 1734 (w), 1606 (s), 1578 (w).

Optical properties:

Solvent	$\lambda_{abs, max}$	λ_{em}	ϵ_{max}	Φ_F
MeOH	653 nm	-	91 900 M ⁻¹ cm ⁻¹	<0.01
PBS (<i>pH</i> =7.4)	651 nm	-	77 300 M ⁻¹ cm ⁻¹	<0.01

R_f value (DCM/MeOH 9:1)=0.22.

Retention time (*system* 3, HPLC 10–100)=4.00 min.

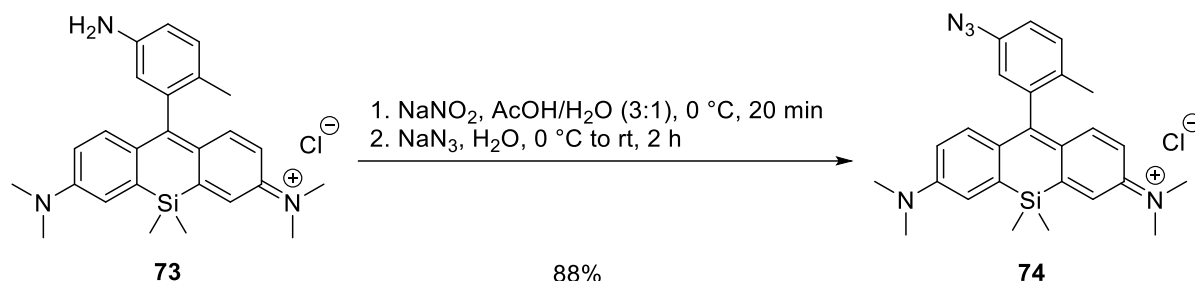
Melting point: T=74 °C.

HR-ESI-MS in DCM/MeOH:

C ₂₆ H ₃₂ N ₃ Si ⁺	calculated <i>m/z</i>	found <i>m/z</i>
[M] ⁺	414.2360	414.2358

The $^1\text{H-NMR}$ data are in accordance with the data from the literature.^[131]

5.2.11 Synthesis of Si-rhodamine **74**^[200, 347, 349]



The amine-functionalized Si-rhodamine **73** (114 mg, 253 μmol , 1.0 eq.) was dissolved in a 3:1 ratio of acetic acid (3 mL) and deionized water (1 mL). The dark blue solution was cooled down to $0\text{ }^\circ\text{C}$ and sodium nitrite (26.2 mg, 380 μmol , 1.5 eq.) dissolved in deionized water (500 μL) was added in one portion. A color change from dark blue to slightly green-blue was observed. After 20 minutes sodium azide (32.8 mg, 506 μmol , 2.0 eq.) dissolved in deionized water (500 μL) was added at $0\text{ }^\circ\text{C}$. The color of the reaction mixture changed to dark blue again. The reaction mixture was stirred for two hours at $0\text{ }^\circ\text{C}$. Afterwards the solvents were carefully removed under reduced pressure. The reaction mixture was diluted with deionized water and DCM. *CAUTION: working with azides should always be done cautiously. In the case of reactions with azide sources in DCM, formation of explosive diazidomethane has been reported. However, we never observed any cases with this low scales.* Subsequently the organic phase was separated. The aqueous phase was extracted with DCM (3x100 mL). The combined organic phases were washed with brine and dried over sodium sulfate. After filtration, the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified by flash column chromatography (silica gel, DCM/MeOH 99:1 to 90:10) to afford Si-rhodamine **74** (106 mg, 223 μmol , 88%) as a dark blue solid.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{MeOD-}d_4$, 300 K):

δ (ppm)=7.44 (d, $J=8.3\text{ Hz}$, 1 H, H_{arom}), 7.37 (d, $J=2.8\text{ Hz}$, 2 H, H_{arom}), 7.20 (dd, $J=8.3\text{ Hz}$, 2.3 Hz , 1 H, H_{arom}), 7.09 (d, $J=9.6\text{ Hz}$, 2 H, H_{arom}), 6.84 (d, $J=2.3\text{ Hz}$, 1 H, H_{arom}), 6.80 (dd, $J=9.6\text{ Hz}$, 2.8 Hz , 2 H, H_{arom}), 3.36 (s, 12 H, N- CH_3), 2.01 (s, 3 H, CH_3), 0.62 (s, 3 H, Si- CH_3), 0.60 (s, 3 H, Si- CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, $\text{MeOD-}d_4$, 300 K):

δ (ppm)=168.9, 155.8, 149.5, 142.1, 141.7, 139.5, 134.0, 132.9, 128.2, 122.3, 120.7, 120.5, 115.4, 41.0, 18.8, -1.1, -1.3.

5. Experimental Section

IR (KBr):

ν [cm^{-1}]=3430 (br), 2979 (w), 2883 (w), 2383 (w), 2358 (w), 2342 (w), 2325 (w), 2300 (w), 2108 (w), 1608 (w), 1568 (w), 1492 (w).

Optical properties:

Solvent	$\lambda_{abs, max}$	λ_{em}	ϵ_{max}	Φ_F
MeOH	651 nm	670 nm	156 500 $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$	0.18
H ₂ O/EtOH (5%)	651 nm	670 nm	123 700 $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$	0.10
PBS ($pH=7.4$)	651 nm	671 nm	99 000 $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$	0.12

R_f value (DCM/MeOH 9:1)=0.45.

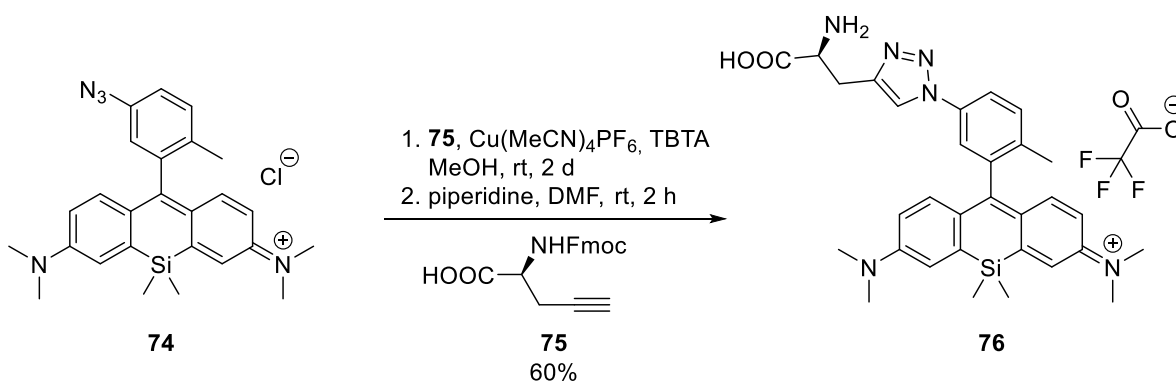
Retention time (system 3, HPLC 10–100)=6.03 min.

Melting point: decomposition >189 °C.

HR-ESI-MS in DCM/MeOH:

$\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{N}_5\text{Si}^+$	calculated m/z	found m/z
$[\text{M}]^+$	440.2265	440.2271

5.2.12 Synthesis of Si-rhodamine **76**^[200, 347]



The azide-functionalized Si-rhodamine **74** (100 mg, 210 μmol , 1.0 eq.) was dissolved in anhydrous methanol (5 mL) under an argon atmosphere. The solids Fmoc-*L*-propargylglycine **75** (141 mg, 420 μmol , 2.0 eq.), tetrakis(acetonitrile)copper(I) hexafluorophosphate (7.80 mg, 21.0 μmol , 0.1 eq.) and tris(benzyltriazolylmethyl)amine (11.1 mg, 21.0 μmol , 0.1 eq.) were added then to the blue solution under an argon atmosphere. The reaction mixture was stirred for two days at room temperature. Afterwards the solvent was removed under reduced

pressure. Then the residue was dissolved in DCM (100 mL) and deionized water (20 mL) was added. The organic phase was separated in a separation funnel. The aqueous phase was extracted with DCM (3x70 mL). The combined organic phases were washed with brine and dried over sodium sulfate. After filtration, the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified by flash column chromatography (silica gel, DCM/MeOH 96:4 to 80:20). The concentrated and combined fractions from the column were filtrated over cotton wool and the 1,2,3-triazole-functionalized Si-rhodamine (142 mg, 183 μmol , 87%) was obtained as a dark blue solid. Afterwards the Si-rhodamine was dissolved under argon atmosphere in anhydrous dimethylformamide (2 mL) to cleave the Fmoc protection group. Piperidine (2 mL) was added and the reaction was stirred for further two hours at room temperature under an inert atmosphere. Then the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified with HPLC (10–95% MeCN/H₂O, linear gradient in 32 minutes, with constant 0.1% v/v TFA additive, *system* 1) to afford Si-rhodamine **76** (84.1 mg, 126 μmol , 60%) as blue solid.

¹H-NMR (500 MHz, MeOD-*d*₄, 300 K):

δ (ppm)=8.49 (s, 1 H, H_{arom}), 7.98 (dd, *J*=8.4 Hz, 2.3 Hz, 1 H, H_{arom}), 7.69 (d, *J*=2.3 Hz, 1 H, H_{arom}), 7.64 (d, *J*=8.4 Hz, 1 H, H_{arom}), 7.39 (d, *J*=2.8 Hz, 2 H, H_{arom}), 7.13 (d, *J*=9.7 Hz, 2 H, H_{arom}), 6.80 (dd, *J*=9.7 Hz, 2.7 Hz, 2 H, H_{arom}), 4.41 (dd, *J*=7.3 Hz, 5.0 Hz, 1 H, C_qH), 3.50 (dd, *J*=15.8 Hz, 5.0 Hz, 1 H, CH), 3.41 (dd, *J*=15.8 Hz, 7.3 Hz, 1 H, CH), 3.36 (s, 12 H, N-CH₃), 2.13 (s, 3 H, CH₃), 0.63 (s, 3 H, Si-CH₃), 0.62 (s, 3 H, Si-CH₃).

¹³C-NMR (151 MHz, MeOD-*d*₄, 300 K):

δ (ppm)=170.7, 167.9, 155.8, 149.6, 142.0, 141.7, 138.4, 136.4, 133.0, 128.2, 123.2, 123.0, 122.5, 121.9, 121.7, 115.5, 53.6, 41.0, 27.2, 19.1, -1.2, -1.3.

IR (KBr):

ν [cm⁻¹]=3426 (br), 2975 (w), 2886 (w), 1682 (w), 1609 (w), 1579 (s), 1497 (w).

Optical properties:

Solvent	$\lambda_{abs, max}$	λ_{em}	ϵ_{max}	Φ_F
MeOH	655 nm	672 nm	79 900 M ⁻¹ cm ⁻¹	0.13
H ₂ O/EtOH (5%)	653 nm	671 nm	73 890 M ⁻¹ cm ⁻¹	0.10
PBS (<i>pH</i> =7.4)	655 nm	672 nm	79 900 M ⁻¹ cm ⁻¹	0.13

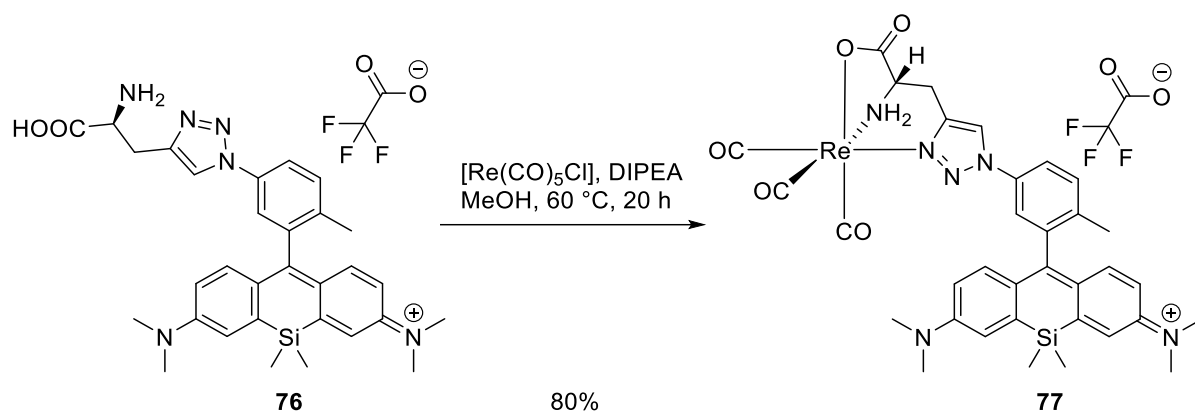
Retention time (*system* 3, HPLC 10–100)=4.27 min.

Melting point: T=127 °C; decomposition >240 °C.

HR-ESI-MS in DCM/MeOH:

$C_{31}H_{37}N_6O_2Si^+$	calculated m/z	found m/z
$[M]^+$	553.2742	553.2752
$[M-CH_3]^+$	539.2585	539.2596

5.2.13 Synthesis of the rhenium-complexed Si-rhodamine **77^[222, 347]**



Si-rhodamine **76** (15 mg, 25.5 μ mol, 1.0 eq.) was dissolved in anhydrous methanol (2 mL) under an argon atmosphere. Subsequently *N,N*-diisopropylethylamine (10 μ L, 58.8 μ mol, 2.3 eq.) was added to the blue solution. After 15 minutes rhenium(I) pentacarbonyl chloride (10.1 mg, 28.1 μ mol, 1.1 eq.) was added in one portion. The dark blue solution was warmed up to 60 °C and the reaction was stirred for further 20 hours under an argon atmosphere. After complete conversion (monitored by HPLC, *system* 3, HPLC 10–100) the solutions were completely evaporated under reduced pressure. The crude product was purified with HPLC (10–95% MeCN/H₂O, linear gradient in 32 minutes, with constant 0.1% v/v TFA additive, *system* 1) to afford the Re-complex **77** (19.0 mg, 20.3 μ mol, 80%) as a blue solid.

¹H-NMR (500 MHz, MeOD-*d*₄, 300 K):

δ (ppm)=8.63 (s, 1 H, H_{arom}), 8.03 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.2 Hz, 1 H, H_{arom}), 7.71–7.69 (m, 2 H, H_{arom}), 7.39 (d, $J=2.8$ Hz, 2 H, H_{arom}), 7.12 (dd, $J=9.7$ Hz, 3.3 Hz, 2 H, H_{arom}), 6.81 (dt, $J=9.6$ Hz, 3.1 Hz, 2 H, H_{arom}), 5.97 (dd, $J=10.8$ Hz, 5.5 Hz, 1 H, NH), 5.27 (d, $J=11.3$ Hz, 1 H, NH), 4.14 (q, $J=3.7$ Hz, 1 H, C_qH), 3.52–3.40 (m, 2 H, CH₂), 3.36 (s, 12 H, N-CH₃), 2.15 (s, 3 H, CH₃), 0.63 (s, 3 H, Si-CH₃), 0.62 (s, 3 H, Si-CH₃).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, MeOD- d_4 , 300 K):

δ (ppm)=167.3, 155.9, 149.5, 144.9, 142.0, 141.9, 139.8, 135.4, 133.3, 128.1, 125.0, 122.6, 122.2, 122.1, 115.6, 115.5, 52.9, 41.0, 27.5, 19.1, -1.1, -1.3.

IR (KBr):

ν [cm^{-1}]=3431 (br), 2976 (w), 2885 (w), 2022 (CO; vs), 1889 (CO; vs), 1681 (w), 1638 (w), 1608 (CO; vs), 1579 (w).

Optical properties:

Solvent	$\lambda_{abs, max}$	λ_{em}	ϵ_{max}	Φ_F
MeOH	654 nm	672 nm	$63\,900\ \text{M}^{-1}\ \text{cm}^{-1}$	0.14
H ₂ O/EtOH (5%)	654 nm	674 nm	$22\,100\ \text{M}^{-1}\ \text{cm}^{-1}$	0.10
PBS ($pH=7.4$)	654 nm	669 nm	$39\,100\ \text{M}^{-1}\ \text{cm}^{-1}$	0.09

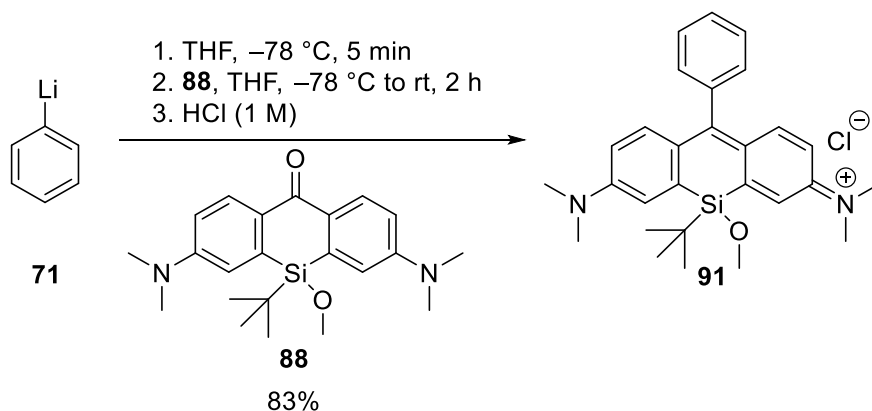
Retention time (system 3, HPLC 10–100)=5.11–5.28 min.

Melting point: T=decomposition $>270\ ^\circ\text{C}$.

HR-ESI-MS in DCM/MeOH:

$\text{C}_{34}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_5\text{ReSi}^+$	calculated m/z	found m/z
$[\text{M}]^+$	823.2068	823.2085
$[\text{M}-\text{CH}_3]^+$	809.1931	809.1912

5.2.14 Synthesis of Si-rhodamine 91^[153, 197]



5. Experimental Section

A commercially available solution of phenyl lithium **71** (1.9 M in dibutyl ether, 165 μL , 314 μmol , 1.2 eq.) was added in anhydrous THF (5.0 mL) to a round-bottom flask under an argon atmosphere. The yellow solution was quickly cooled down to $-78\text{ }^\circ\text{C}$ and then the solution was held for further five minutes at $-78\text{ }^\circ\text{C}$. Afterwards Si-xanthone **88** (100 mg, 261 μmol , 1 eq.) in anhydrous THF (10.0 mL) was added dropwise via a syringe to the yellow solution at $-78\text{ }^\circ\text{C}$. A color change to a dark red color was observed. The cooling bath was removed and the reaction mixture was allowed to warm up to room temperature. The reaction mixture was stirred for two hours at room temperature. After complete conversion of Si-xanthone **88** (monitored by normal phase TLC: DCM/MeOH 9:1) the reaction mixture was quenched with deionized water (50 mL). Afterwards a solution of hydrochloric acid (1 M; 2 mL) was added to the red solution and the reaction mixture became dark blue. The aqueous solution was added into a separation funnel and DCM (200 mL) was added. The organic phase was separated and the aqueous phase was extracted with DCM (4x100 mL) until the aqueous solution became nearly colorless. Subsequently the combined organic phases were washed with brine and were dried over sodium sulfate. After filtration, the solvent was removed under reduced pressure. Then the blue crude product was purified by flash column chromatography (silica gel, DCM/MeOH 99:1 to 90:10) to afford the Si-rhodamine **91** as a dark blue solid (104 mg, 217 μmol , 83%).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD , 300 K):

δ (ppm)=7.61–7.55 (m, 3 H, H_{arom}), 7.33 (d, $J=2.8\text{ Hz}$, 2 H, H_{arom}), 7.32–7.20 (m, 2 H, H_{arom}), 7.18 (d, $J=9.6\text{ Hz}$, 2 H, H_{arom}), 6.82 (dd, $J=9.7\text{ Hz}$, 2.9 Hz, 2 H, H_{arom}), 3.62 (s, 3 H, O- CH_3), 3.36 (s, 12 H, N- CH_3), 0.99 (s, 9 H, Si- $\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CD_3OD , 300 K):

δ (ppm)=171.0, 155.2, 144.2, 143.6, 140.1, 131.1, 130.7, 130.0, 129.6, 129.5, 129.3, 122.7, 115.3, 52.9, 41.0, 25.1, 19.2.

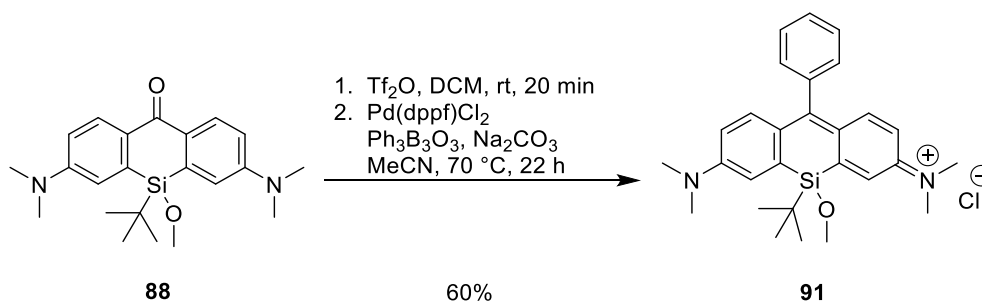
IR (ATR, neat):

ν [cm^{-1}]=3375 (br, m), 2926 (br, m), 2853 (br, m), 1569 (vs).

R_f value (DCM/MeOH 9:1)=0.38.

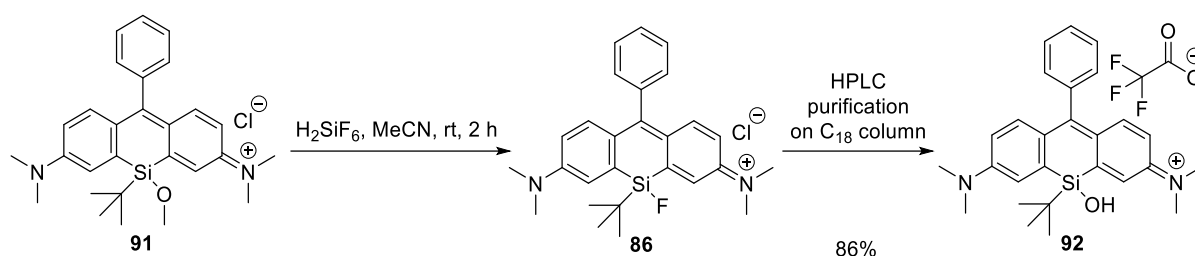
HR-ESI-MS in DCM/MeOH:

$C_{28}H_{35}N_2OSi^+$	calculated m/z	found m/z
$[M]^+$	443.2514	443.2517
$[M-CH_3]^+$	429.2357	429.2361

5.2.15 Synthesis of Si-rhodamine **91** via Suzuki-Miyaura cross coupling^[198]

Si-xanthone **88** (50 mg, 131 μ mol, 1.0 eq.) was dissolved in a heat-dried flask in anhydrous DCM (2 mL) under an argon atmosphere. Then trifluoromethanesulfonic anhydride (1 M in DCM, 144 μ L, 144 μ mol, 1.1 eq.) was added to the solution under vigorous stirring. Immediately an intense color change from yellow to dark blue was observed. Then the reaction mixture was stirred for 20 minutes at room temperature. After 20 minutes the DCM was removed under reduced pressure. Then the solids boroxine **52b** (44.9 mg, 144 μ mol, 1.1 eq.), Pd(dppf)Cl₂ (10.7 mg, 13.1 μ mol, 0.1 eq.) and sodium carbonate (41.6 mg, 392 μ mol, 3.0 eq.) were added to the blue residue. Afterwards the solids were dissolved in anhydrous acetonitrile (2 mL). The dark blue solution was warmed up to 70 °C and was stirred for 22 hours. After the reaction time the solution was allowed to cool to room temperature. The solvent was completely removed under reduced pressure and was dissolved in DCM. Then the blue solution was filtrated over a short pad of Celite[®]. Deionized water (40 mL) was added to the filtrate and the solution was transferred into a separation funnel. The organic phase was separated. The aqueous phase was extracted with DCM (3x100 mL). The combined organic phases were washed with brine and dried over sodium sulfate. After filtration, the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified by flash column chromatography (silica gel, DCM/MeOH 99:1 to 90:10). The concentrated and combined fractions from the column were filtrated over cotton wool and Si-rhodamine **91** (35 mg, 79.1 μ mol, 60%) was afforded as a dark blue solid.

The analytical data of **91** are in agreement with the previous data.

5.2.16 Synthesis of Si-rhodamine **92**

Si-rhodamine **91** (5 mg, 11.3 μmol , 1 eq.) was added to a Falcon[®] tube and was dissolved in anhydrous acetonitrile (1 mL) under an argon atmosphere. Then a solution of fluorosilicic acid (20–25% in water, 50 μL) was added to the blue solution. Under room temperature the dark blue solution was stirred for two hours. After complete conversion (monitored by ESI-MS: positive modus) the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was dissolved in a mixture of deionized water and acetonitrile (1:1; 2 mL). After filtration over a syringe filter, the solution was directly injected into the HPLC for purification (10–90% MeCN/H₂O, linear gradient in 35 minutes, with constant 0.1% v/v TFA additive, *system 2*). After HPLC purification Si-rhodamine **92** was obtained as a dark blue solid (5.27 mg, 9.72 μmol , 86%).

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD, 300 K):

δ (ppm)=7.61–7.53 (m, 3 H, H_{arom}), 7.40 (d, $J=2.9$ Hz, 2 H, H_{arom}), 7.31–7.17 (m, 2 H, H_{arom}), 7.15 (d, $J=9.7$ Hz, 2 H, H_{arom}), 6.79 (dd, $J=9.7$ Hz, 2.9 Hz, 2 H, H_{arom}), 3.35 (s, 12 H, N-CH₃), 0.97 (s, 9 H, Si-C(CH₃)₃).

¹³C-NMR (101 MHz, CD₃OD, 300 K):

δ (ppm)=171.0, 155.1, 148.5, 147.3, 143.3, 140.3, 131.9, 130.9, 130.4, 129.9, 122.6, 114.9, 40.9, 25.2, 19.6.

IR (ATR, neat):

ν [cm⁻¹]=2928 (br, m), 2856 (br, m), 1682 (s), 1573 (vs).

R_f value (DCM/MeOH 9:1)=0.35.

HR-ESI-MS in DCM/MeOH: before HPLC purification: 86

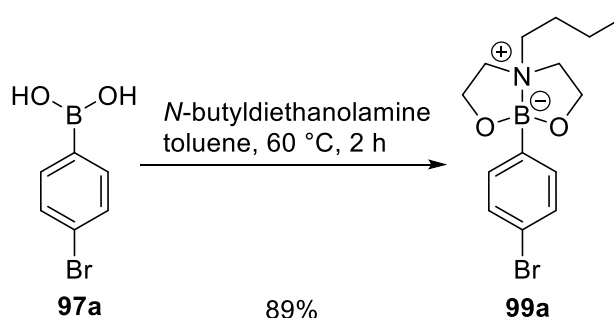
C ₂₇ H ₃₂ FN ₂ Si ⁺	calculated m/z	found m/z
[M] ⁺	431.2313	431.2315

HR-ESI-MS in DCM/MeOH: after HPLC purification: 92

$C_{27}H_{33}N_2OSi^+$	calculated m/z	found m/z
$[M]^+$	429.2357	429.2361

5.2.17 General procedure: the synthesis of protected boronates^[292, 348]

The brominated boronic acid (2.00 g, 9.96 mmol, 1.0 eq.) was placed in a flame dried round-bottom flask under an argon atmosphere. Anhydrous toluene (50 mL) was added to the colorless powder. The suspension was heated to 60 °C. Afterwards *N*-butyldiethanolamine (1.77 g, 11.0 mmol, 1.1 eq.) was added via a syringe to the suspension. After the solid went into solution the reaction mixture was stirred at 60 °C for further two hours. Then the solution was allowed to cool down to room temperature and afterwards the toluene was removed under reduced pressure. Subsequently the remaining solid was washed with *n*-hexane (50 mL) and diethyl ether (50 mL). After washing, the colorless powder was dried under high vacuum overnight.

5.2.17.1 Synthesis of 2-(4'-Bromophenyl)-6-butyl[1,3,6,2]dioxazaborocan (99a)

2-(4'-Bromophenyl)-6-butyl[1,3,6,2]dioxazaborocan (**99a**) was synthesized from 4-bromophenyl boronic acid (**97a**) according to the general procedure 5.2.17. **99a** was obtained as colorless powder (2.89 g, 8.86 mmol, 89%).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 300 K):

δ (ppm)=7.48 (d, $J=8.3$ Hz, 2 H, H_{arom}), 7.40 (d, $J=8.3$ Hz, 2 H, H_{arom}), 4.21–4.04 (m, 4 H, CH₂), 3.12–2.97 (m, 4 H, CH₂), 2.32–2.22 (m, 2 H, CH₂), 1.54–1.46 (m, 2 H, CH₂), 1.14 (h, $J=7.3$ Hz, 2 H, CH₂), 0.83 (t, $J=7.3$ Hz, 3 H, CH₃).

5. Experimental Section

¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃, 300 K):

δ (ppm)=135.3, 130.5, 122.3, 64.1, 59.2, 56.7, 28.0, 20.3, 14.5.

Note: the C_{arom}-B signal was not observed.

¹¹B-NMR (128 MHz, CDCl₃, 300 K):

δ (ppm)=12.4.

IR (ATR, neat):

ν [cm⁻¹]=3207 (br), 3036 (vw), 2961 (s), 2929 (s), 2875 (s), 1576 (s).

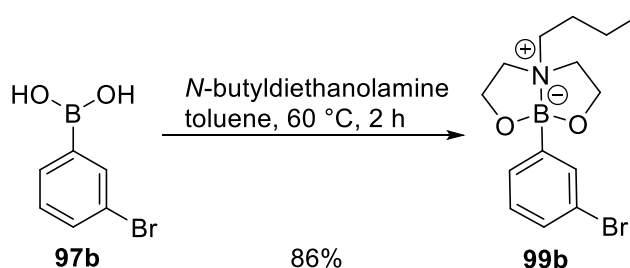
Melting point: T=106 °C.

HR-ESI-MS in DCM/MeOH:

C ₁₄ H ₂₁ B ⁷⁹ Br ⁸¹ BrN ₂ O ₂	calculated <i>m/z</i>	found <i>m/z</i>
[2M+Na] ⁺	675.1570	675.1569

The chemical shifts of the ¹H-NMR and ¹³C-NMR are in accordance with the literature.^[292]

5.2.17.2 Synthesis of 2-(3'-Bromophenyl)-6-butyl[1,3,6,2]dioxazaborocan (**99b**)



2-(3'-Bromophenyl)-6-butyl[1,3,6,2]dioxazaborocan (**99b**) was synthesized from 3-bromophenyl boronic acid (**97b**) according to the general procedure 5.2.17. **99b** was obtained as colorless powder (2.79 g, 8.57 mmol, 86%).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 300 K):

δ (ppm)=7.80 (dd, *J*=7.4 Hz, 2.0 Hz, 1 H, H_{arom}), 7.49 (d, *J*=7.9 Hz, 1 H, H_{arom}), 7.23 (dd, *J*=14.7 Hz, 7.3 Hz, 1 H, H_{arom}), 7.09 (td, *J*=7.5 Hz, 1.9 Hz, 1 H, H_{arom}), 4.26–4.11 (m, 4 H, CH₂), 3.31 (dd, 4 H, *J*=17.1 Hz, 10.3 Hz, 1 H, CH₂), 2.74–2.51 (m, 2 H, CH₂), 1.60–1.51 (m, 2 H, CH₂), 1.18 (h, *J*=7.4 Hz, 2 H, CH₂), 0.85 (t, *J*=7.3 Hz, 3 H, CH₃).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3 , 300 K):

δ (ppm)=135.8, 132.4, 130.7, 129.3, 122.6, 63.2, 60.0, 55.7, 24.7, 20.3, 13.9.

Note: the $C_{\text{arom}}\text{-B}$ signal was not observed.

$^{11}\text{B-NMR}$ (128 MHz, CDCl_3 , 300 K):

δ (ppm)=12.4.

IR (ATR, neat):

ν [cm^{-1}]=3047 (br), 2957 (s), 2928 (s), 2903 (s), 2873 (s), 2841 (s), 2698 (w), 1581 (vs), 1533 (vs).

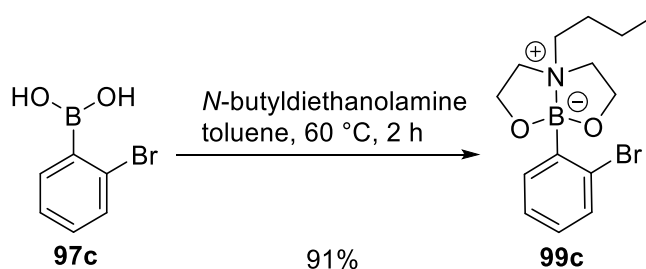
Melting point: $T=116\text{--}117\text{ }^\circ\text{C}$.

HR-ESI-MS in DCM/MeOH:

$\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{B}^{79}\text{Br}^{81}\text{BrN}_2\text{O}_2$	calculated m/z	found m/z
$[\text{2M+Na}]^+$	675.1570	675.1566

The chemical shifts of the $^1\text{H-NMR}$ and the melting point are in accordance with the literature.^[292]

5.2.17.3 Synthesis of 2-(2'-Bromophenyl)-6-butyl[1,3,6,2]dioxazaborocan (**99c**)



2-(2'-Bromophenyl)-6-butyl[1,3,6,2]dioxazaborocan (**99c**) was synthesized from 2-bromophenyl boronic acid (**97c**) according to the general procedure 5.2.17. **99c** was obtained as colorless powder (2.96 g, 9.06 mmol, 91%).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , 300 K):

δ (ppm)=7.74 (s, 1 H, H_{arom}), 7.52 (d, $J=7.3$ Hz, 1 H, H_{arom}), 7.37 (d, $J=8.7$ Hz, 1 H, H_{arom}), 7.15 (t, $J=7.6$ Hz, 1 H, H_{arom}), 4.20–4.09 (m, 4 H, CH_2), 3.11–2.97 (m, 4 H), 2.32–2.28 (m, 2 H, CH_2), 1.60–1.51 (m, 2 H, CH_2), 1.18 (h, $J=7.4$ Hz, 2 H, CH_2), 0.85 (t, $J=7.3$ Hz, 3 H, CH_3).

¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃, 300 K):

δ (ppm)=137.0, 134.2, 130.7, 129.5, 126.4, 65.0, 58.4, 26.1, 18.9, 14.7.

Note: the C_{arom}-B signal was not observed.

¹¹B-NMR (128 MHz, CDCl₃, 300 K):

δ (ppm)=12.5.

IR (ATR, neat):

ν [cm⁻¹]=3054 (w), 2957 (s), 2932 (s), 2888 (s), 1547 (w).

Melting point: T=94 °C.

HR-ESI-MS in DCM/MeOH:

C ₁₄ H ₂₁ B ⁷⁹ Br ⁸¹ BrN ₂ O ₂	calculated <i>m/z</i>	found <i>m/z</i>
[2M+Na] ⁺	675.1570	675.1568

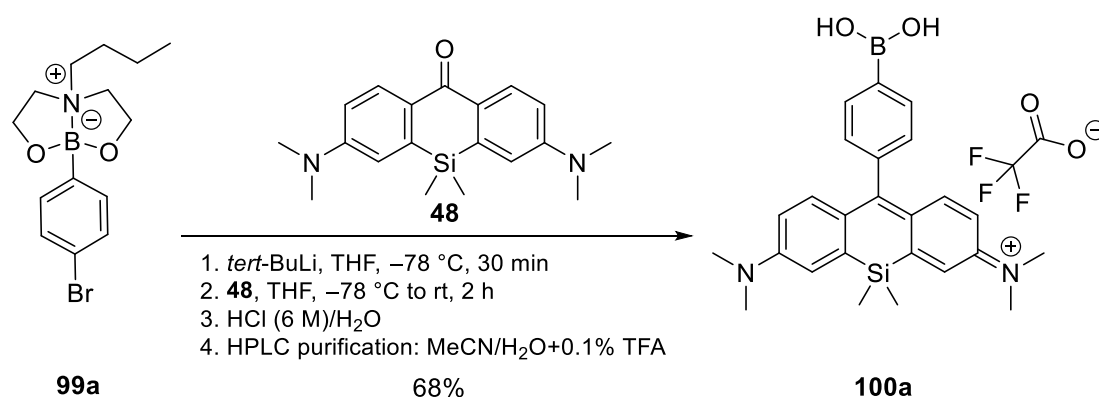
The chemical shifts of the ¹H-NMR and the melting point are in accordance with the literature.^[292]

5.2.18 General procedure: syntheses of boronic acid functionalized silicon-rhodamines^[153, 348]

The brominated phenyl boronates **99a–99c** (300 mg, 920 μmol, 4.0 eq.) were dissolved in a flame-dried round-bottom flask in anhydrous tetrahydrofuran (9.20 mL) under an argon atmosphere. The brown solution was cooled down to –78 °C and was stirred for 10 minutes. At –78 °C *tert*-butyllithium (1.6 M in pentane, 1.18 mL, 1.89 mmol, 8.2 eq.) was added dropwise to the solution. **CAUTION: solutions of *tert*-butyllithium react explosively with water and may ignite in moist air.** Then the orange solution was stirred for 30 minutes at –78 °C. Afterwards the Si-xanthone **48** (74.6 mg, 230 μmol, 1.0 eq.) in anhydrous THF (8 mL) was added via a syringe to the reaction mixture at –78 °C. The color of the solution gradually changed to a bright orange. After complete addition of the Si-xanthone **48**, the cooling bath was immediately removed and the orange solution was stirred for at least four hours which led to almost complete conversion of **48** (monitored by normal phase TLC: DCM/MeOH 9:1). However complete consumption of **48** was not observed during the performed reactions (based on TLC).

A solution of hydrochloric acid (3 M, 5.00 mL) and deionized water (50 mL) were added to the orange solution and the solution turned gradually dark blue. The blue solution was stirred for another 30 minutes. The blue solution was extracted with DCM (3x250 mL) until the aqueous solution became nearly colorless. The combined organic phases were washed with brine and were dried over sodium sulfate. After filtration, the solvent was removed under reduced pressure. Subsequently the crude product was purified by flash column chromatography (silica gel, DCM/MeOH 99:1 to 80:20 with constant 2% v/v acetic acid additive) to afford the Si-rhodamines as a dark blue solid. The concentrated and combined fractions from the column were filtrated over cotton wool. To increase the purity and to verify the counter ion as a trifluoroacetate ion (presence of trifluoroacetate was proven by ^{19}F -NMR measurements), the product was purified by reverse-phase HPLC (10–90% MeCN/H₂O, linear gradient in 35 minutes, with constant 0.1% v/v TFA additive, *system 2*) to afford the corresponding Si-rhodamines.

5.2.18.1 Synthesis of Si-rhodamine 100a



The Si-rhodamine **100a** was synthesized from 2-(4'-Bromophenyl)-6-butyl[1,3,6,2]dioxazaborocan (**99a**, 300 mg, 920 μmol , 4.0 eq.) and Si-xanthone **48** (74.6 mg, 230 μmol , 1.0 eq.) according to the general procedure 5.2.18. **100a** was obtained as dark blue solid (84.8 mg, 156 μmol , 68%) after HPLC purification.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, MeOD-*d*₄, 300 K):

δ (ppm)=7.91 (s, 1 H, H_{arom}), 7.83 (s, 1 H, H_{arom}), 7.35 (d, $J=2.9$ Hz, 2 H, H_{arom}), 7.26 (s, 2 H, H_{arom}), 7.14 (d, $J=9.7$ Hz, 2 H, H_{arom}), 6.76 (d, $J=8.3$ Hz, 2 H, H_{arom}), 3.34 (s, 12 H, N-CH₃), 0.60 (s, 6 H, Si-CH₃).

5. Experimental Section

¹³C-NMR (101 MHz, MeOD-*d*₄, 300 K):

δ (ppm)=163.1, 155.7, 152.1, 149.6, 143.2, 134.5, 129.6, 128.8, 122.1, 114.9, 40.9, -1.1.

Note: the *C*_{arom}-*B* signal was not observed.

¹¹B-NMR (192 MHz, MeOD-*d*₄, 300 K):

δ (ppm)=28.5.

¹⁹F-NMR (376 MHz, MeOD-*d*₄, 300 K):

δ (ppm)=-77.4 (CF₃COO⁻).

IR (ATR, neat):

ν [cm⁻¹]=3227 (br), 2933 (br), 1673 (s), 1603 (s), 1573 (vs).

Optical properties:

Solvent	$\lambda_{abs, max}$	λ_{em}	ϵ_{max}	Φ_F
DMSO	659 nm	677 nm	67 800 M ⁻¹ cm ⁻¹	0.15
PBS (pH=7.4)	646 nm	672 nm	61 700 M ⁻¹ cm ⁻¹	0.10

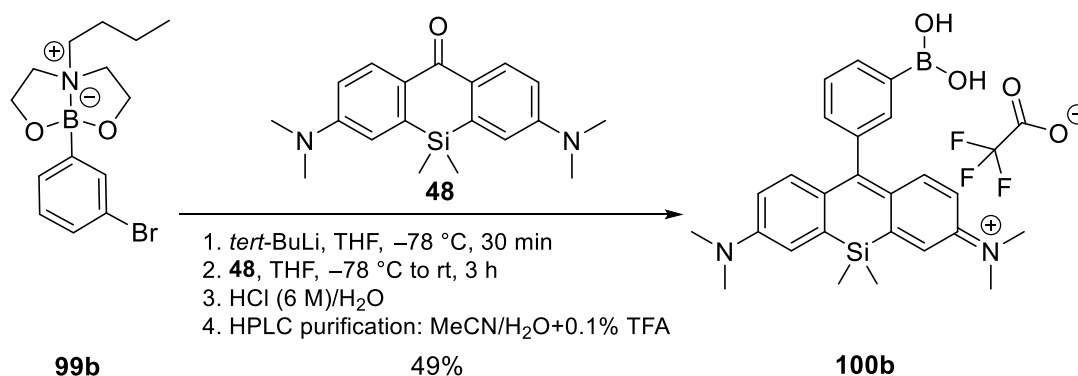
*R*_f value (DCM/MeOH 9:1)=0.08.

Retention time (system 7, HPLC 45–95)=6.63 min.

HR-ESI-MS in acetonitrile/water (+0.1% formic acid):

C ₂₅ H ₃₀ BN ₂ O ₂ Si ⁺	calculated <i>m/z</i>	found <i>m/z</i>
[M] ⁺	429.2165	429.2175

5.2.18.2 Synthesis of Si-rhodamine 100b



The Si-rhodamine **100b** was synthesized from 2-(3'-Bromophenyl)-6-butyl[1,3,6,2]dioxazaborocan (**99b**, 300 mg, 920 μmol , 4.0 eq.) and Si-xanthone **48** (74.6 mg, 230 μmol , 1.0 eq.) according to the general procedure 5.2.18. **100b** was obtained as dark blue solid (61.1 mg, 113 μmol , 49%) after HPLC purification.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, MeOD- d_4 , 300 K):

δ (ppm)=7.87 (s, 1 H, H_{arom}), 7.61–7.43 (m, 2 H, H_{arom}), 7.41–7.26 (m, 3 H, H_{arom}), 7.15 (d, $J=9.5$ Hz, 2 H, H_{arom}), 6.76 (d, $J=9.8$ Hz, 2 H, H_{arom}), 3.34 (s, 12 H, N- CH_3), 0.58 (s, 6 H, Si- CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, MeOD- d_4 , 300 K):

δ (ppm)=171.5, 155.7, 149.6, 143.3, 139.9, 135.2, 134.8, 131.5, 129.0, 128.5, 122.1, 114.9, 40.8, -2.6.

Note: the $\text{C}_{\text{arom-B}}$ signal was not observed.

$^{11}\text{B-NMR}$ (192 MHz, MeOD- d_4 , 300 K):

δ (ppm)=28.1.

$^{19}\text{F-NMR}$ (376 MHz, MeOD- d_4 , 300 K):

δ (ppm)=-76.7 (CF_3COO^-).

IR (ATR, neat):

ν [cm^{-1}]=3226 (br), 2932 (br), 1674 (s), 1573 (vs).

Optical properties:

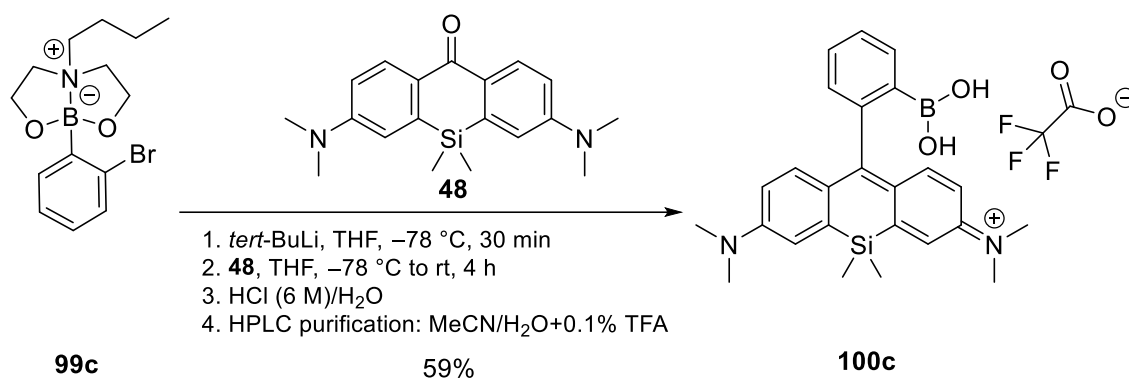
Solvent	$\lambda_{\text{abs, max}}$	λ_{em}	ϵ_{max}	Φ_{F}
DMSO	659 nm	678 nm	106 600 $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$	0.09
PBS ($\text{pH}=7.4$)	647 nm	661 nm	61 700 $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$	0.18

R_f value (DCM/MeOH 9:1)=0.12.

Retention time (system 7, HPLC 45–95)=7.24 min.

HR-ESI-MS in DCM/MeOH:

$C_{25}H_{30}BN_2O_2Si^+$	calculated m/z	found m/z
$[M]^+$	429.2165	429.2164
$[M+OMe]^+$	443.2321	443.2321
$[M+2OMe]^+$	457.2477	457.2477

5.2.18.3 Synthesis of Si-rhodamine 100c

The Si-rhodamine **100c** was synthesized from 2-(2'-Bromophenyl)-6-butyl[1,3,6,2]dioxazaborocane (**99c**, 300 mg, 920 μmol , 4.0 eq.) and Si-xanthone **48** (74.6 mg, 230 μmol , 1.0 eq.) according to the general procedure 5.2.18. **100c** was obtained as dark blue solid (73.6 mg, 136 μmol , 59%) after HPLC purification.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{MeOD-}d_4$, 300 K):

δ (ppm)=7.72–7.61 (m, 1 H, H_{arom}), 7.59–7.53 (m, 2 H, H_{arom}), 7.33 (d, $J=2.9$ Hz, 2 H, H_{arom}), 7.29–7.22 (m, 1 H, H_{arom}), 7.20–7.05 (m, 2 H, H_{arom}), 6.88–6.62 (m, 2 H, H_{arom}), 3.33 (s, 12 H, N- CH_3), 0.64 (s, 3 H, Si- CH_3), 0.54 (s, 3 H, Si- CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, $\text{MeOD-}d_4$, 300 K):

δ (ppm)=171.8, 155.5, 149.4, 144.3, 143.6, 143.3, 134.5, 133.3, 132.1, 130.7, 130.3, 129.8, 129.5, 129.4, 128.8, 122.6, 121.5, 119.1, 115.3, 40.8, -0.2, -2.1.

Note: the $C_{\text{arom}}\text{-B}$ signal was not observed.

$^{11}\text{B-NMR}$ (192 MHz, $\text{MeOD-}d_4$, 300 K):

δ (ppm)=26.5.

$^{19}\text{F-NMR}$ (564 MHz, $\text{MeOD-}d_4$, 300 K):

δ (ppm)=-77.1 (CF_3COO^-).

IR (ATR, neat):

ν [cm^{-1}]=3076 (br), 2929 (br), 1673 (s), 1572 (vs).

Optical properties:

Solvent	$\lambda_{\text{abs, max}}$	λ_{em}	ϵ_{max}	Φ_{F}
HCl (0.1 M)	644 nm	667 nm	17 500 $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$	0.20

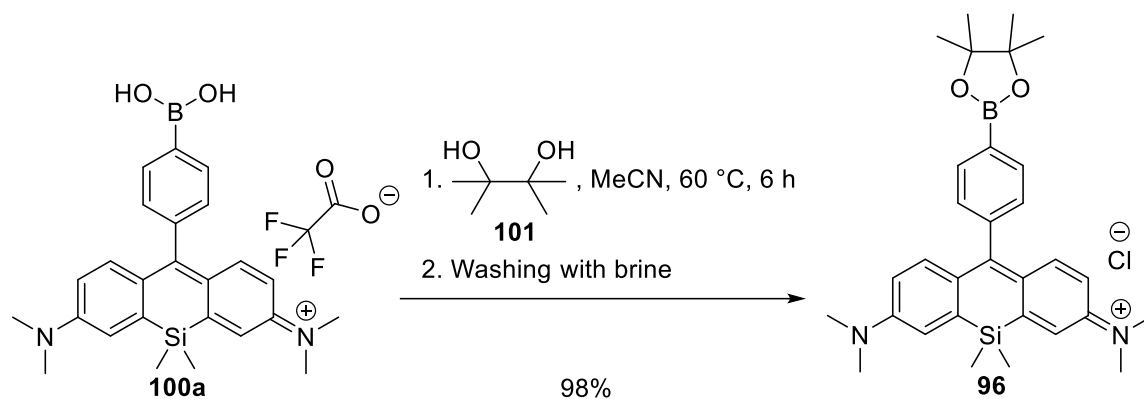
R_f value (DCM/MeOH 96:4)=0.47.

Retention time (system 7, HPLC 45–95)=3.36 min.

HR-ESI-MS in acetonitrile/water (+0.1% formic acid):

$\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{BN}_2\text{O}_2\text{Si}^+$	calculated m/z	found m/z
$[\text{M}]^+$	429.2165	429.2173

5.2.19 The synthesis of a boronic acid pinacol ester functionalized Si-rhodamine **96**^[350]



Under ambient conditions Si-rhodamine **100a** (5 mg, 9.22 μmol , 1 eq.) was dissolved in anhydrous acetonitrile (200 μL) and the commercially available pinacol (1.14 mg, 9.68 μmol , 1.05 eq.) in acetonitrile (100 μL) was added to the blue solution. The reaction mixture was stirred for six hours at 60 °C. After complete consumption of the starting material (monitored by normal phase TLC: DCM/MeOH 9:1 and ESI-MS in positive mode) the solvent was removed under reduced pressure. The dark blue residue was dissolved in DCM (5 mL) and was transferred into a separation funnel. Then DCM (50 mL) and deionized water (50 mL) were added. Subsequently the dark solution was extracted with DCM (3x20 mL) until the aqueous solution became nearly colorless. The combined organic phases were washed with brine and were dried over sodium sulfate. After filtration, the solvent was removed under

5. Experimental Section

reduced pressure. After purification by microscale flash column chromatography (silica gel, DCM/MeOH 99:1 to 92:8) using a Pasteur pipette, the pinacol ester **96** was obtained as a dark blue solid (5.64 mg, 9.04 μ mol, 98%). *Note: HPLC purification with solvents containing TFA or formic acid was avoided due to the instability of 96 in acidic media caused by protodeborylation. There was no ^{19}F -NMR signal observed for the corresponding trifluoroacetate counter ion which indicates the presence of the chloride counter ion.^[298]*

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3 , 300 K):

δ (ppm)=7.94 (d, $J=6.7$ Hz, 2 H, H_{arom}), 7.26–7.17 (m, 4 H, H_{arom}), 7.09 (d, $J=11.0$ Hz, 2 H, H_{arom}), 6.58 (dd, $J=9.6$ Hz, 2.9 Hz, 2 H, H_{arom}), 3.39 (s, 12 H, N- CH_3), 1.39 (s, 12 H, CH_3), 0.61 (s, 6 H, Si- CH_3).

^{13}C -NMR (101 MHz, CDCl_3 , 300 K):

δ (ppm)=169.6, 154.2, 148.7, 142.5, 141.9, 134.5, 128.6, 128.0, 121.2, 113.8, 84.4, 41.3, 25.1, -0.5.

Note: the $\text{C}_{\text{arom}}\text{-B}$ signal was not observed.

^{11}B -NMR (128 MHz, CDCl_3 , 300 K):

δ (ppm)=31.7.

IR (ATR, neat):

ν [cm^{-1}]=3226 (br), 2925 (br), 1605 (s), 1574 (vs), 1512 (s).

Optical properties:

Solvent	$\lambda_{\text{abs, max}}$	λ_{em}	ϵ_{max}	Φ_{F}
DMSO	660 nm	677 nm	57 900 $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$	0.16
PBS ($\text{pH}=7.4$)	643 nm	660 nm	47 600 $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$	0.14

R_f value (DCM/MeOH 9:1)=0.52.

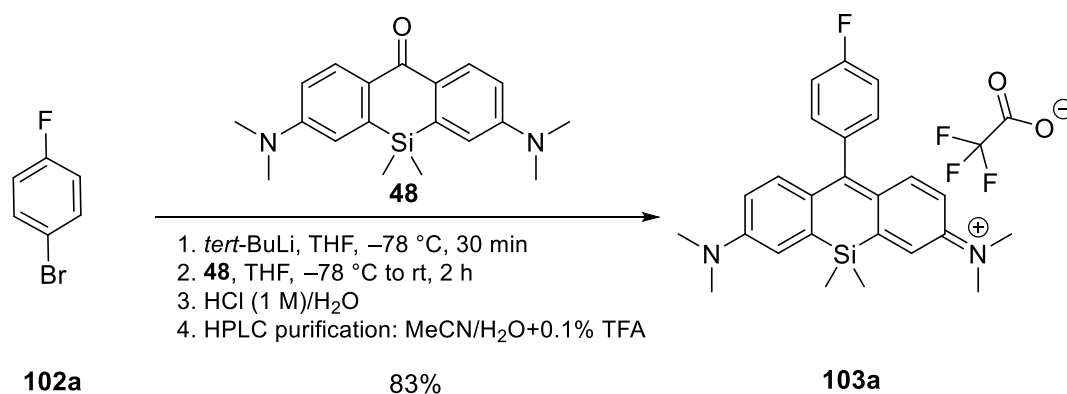
HR-ESI-MS in DCM/MeOH:

$\text{C}_{31}\text{H}_{40}\text{BN}_2\text{O}_2\text{Si}^+$	calculated m/z	found m/z
$[\text{M}]^+$	511.2947	511.2945

5.2.20 General procedure: syntheses of the fluorinated silicon-rhodamines^[153, 348]

The brominated aromatic compounds **102a–102c** (100 mg, 571 μmol , 2.0 eq.) were dissolved in a heat-dried round-bottom flask in anhydrous THF (5.70 mL) under an argon atmosphere. The brown solution was cooled down to $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ and was stirred for 10 minutes at $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Then at $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ *tert*-butyllithium (1.6 M in pentane, 714 μL , 1.14 mmol, 4.0 eq.) was carefully added dropwise to the solution. *CAUTION: solutions of tert-butyllithium react explosively with water and may ignite in moist air.* Afterwards the orange solution was stirred for further 30 minutes at $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Then the Si-xanthone **48** (92.6 mg, 286 μmol , 1.0 eq.) in anhydrous tetrahydrofuran (10 mL) was added via a syringe to the reaction mixture at $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ within one minute. During the addition of **48** a color change to bright red was observed. After complete addition of **48**, the cooling bath was removed and the reaction mixture was allowed to warm up to room temperature. The reddish solution was stirred for further two hours at room temperature. Monitored by normal phase TLC (DCM/MeOH 9:1) complete conversion of **48** was not observed (even at longer reaction times up to 18 hours). Thereafter hydrochloric acid (1 M, 2.00 mL) and deionized water (50 mL) were added to the orange solution and the solution turned gradually dark blue. The blue solution was extracted with DCM (3x100 mL) until the aqueous solution became nearly colorless. The combined organic phases were washed with brine and were dried over sodium sulfate. After filtration, the solvent was removed under reduced pressure. Then the blue crude product was purified by flash column chromatography (silica gel, DCM/MeOH 99:1 to 92:8) to afford the Si-rhodamines as a dark blue solid. The possibility to reisolate **48** was given with isocratic elution on column (DCM/MeOH 99:1). To increase the purity and to verify the counter ion as a trifluoroacetate ion (presence of trifluoroacetate was proven by ^{19}F -NMR measurements), the product was purified by reverse-phase HPLC (30–90% MeCN/H₂O, linear gradient in 35 minutes, with constant 0.1% v/v TFA additive, *system 2*) to obtain the corresponding Si-rhodamines. The reported yields are based on reisolated starting material of Si-xanthone **48** (brsm).

5.2.20.1 Synthesis of Si-rhodamine 103a



The Si-rhodamine **103a** was synthesized from commercially available 4-bromofluorobenzene (**102a**, 100 mg, 571 μmol , 2.0 eq.) and Si-xanthone **48** (92.6 mg, 286 μmol , 1.0 eq.) according to the general procedure 5.2.20. **103a** was afforded as a dark blue solid (123 mg, 237 μmol , 42%, 83% brsm) after HPLC purification.

¹H-NMR (400 MHz, MeOD-*d*₄, 300 K):

δ (ppm)=7.40–7.36 (m, 2 H, H_{arom}), 7.34–7.27 (m, 4 H, H_{arom}), 7.15 (d, $J=9.7$ Hz, 2 H, H_{arom}), 6.80 (dd, $J=9.7$ Hz, 2.9 Hz, 2 H, H_{arom}), 3.35 (s, 12 H, N-CH₃), 0.61 (s, 6 H, Si-CH₃).

¹³C-NMR (101 MHz, MeOD-*d*₄, 300 K):

δ (ppm)=169.6, 164.2 (d, $^1J_{\text{C-F}}=247.5$ Hz), 155.6, 149.6, 143.0, 136.6 (d, $^4J_{\text{C-F}}=3.7$ Hz), 132.6, (d, $^3J_{\text{C-F}}=8.3$ Hz), 129.0, 122.3, 116.3 (d, $^2J_{\text{C-F}}=22$ Hz), 115.0, 40.9, -1.1.

¹⁹F-NMR (376 MHz, MeOD-*d*₄, 300 K):

δ (ppm)=-78.0 (CF₃COO⁻), -115.5.

IR (ATR, neat):

ν [cm⁻¹]=2924 (br), 2811 (br), 1573 (vs).

Optical properties:

Solvent	$\lambda_{\text{abs, max}}$	λ_{em}	ϵ_{max}	Φ_{F}
DMSO	663 nm	682 nm	143 900 M ⁻¹ cm ⁻¹	0.13
PBS (<i>pH</i> =7.4)	649 nm	665 nm	88 700 M ⁻¹ cm ⁻¹	0.12

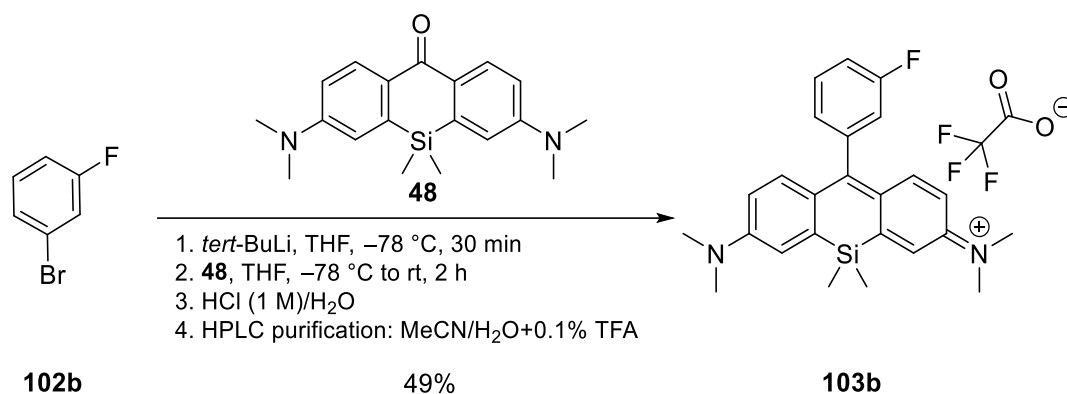
R_f value (DCM/MeOH 9:1)=0.31.

Retention time (system 7, HPLC 45–95)=12.34 min.

HR-ESI-MS in acetonitrile/water (+0.1% formic acid):

$C_{25}H_{28}FN_2Si^+$	calculated m/z	found m/z
$[M]^+$	403.2001	403.2011

5.2.20.2 Synthesis of Si-rhodamine **103b**



The Si-rhodamine **103b** was synthesized from commercially available 3-bromofluorobenzene (**102b**, 100 mg, 571 μ mol, 2.0 eq.) and Si-xanthone **48** (92.6 mg, 286 μ mol, 1.0 eq.) according to the general procedure 5.2.20. **103b** was afforded as a dark blue solid (72.4 mg, 140 μ mol, 25%, 49% brsm) after HPLC purification.

¹H-NMR (400 MHz, MeOD-*d*₄, 300 K):

δ (ppm)=7.59 (td, $J=8.2$ Hz, 5.7 Hz, 1 H, H_{arom}), 7.36 (s, 2 H, H_{arom}), 7.33 (td, $J=8.3$ Hz, 2.6 Hz, 1 H, H_{arom}), 7.20–7.07 (m, 4 H, H_{arom}), 6.80 (dd, $J=9.7$ Hz, 2.9 Hz, 2 H, H_{arom}), 3.35 (s, 12 H, N-CH₃), 0.60 (s, 6 H, Si-CH₃).

¹³C-NMR (101 MHz, MeOD-*d*₄, 300 K):

δ (ppm)=172.4, 168.7, 163.5 (d, $J_{C-F}=148.8$ Hz), 155.7, 149.6 (d, $J_{C-F}=5.0$ Hz), 143.7, 143.0, 142.1, 132.3 (d, $J_{C-F}=8.4$ Hz), 130.8 (d, $J_{C-F}=30.1$ Hz), 128.6, 127.3, 125.8, 123.1 (d, $J_{C-F}=4.6$ Hz), 121.6 (d, $J_{C-F}=4.6$ Hz), 118.3, 117.3, 115.9, 114.2, 41.6, -0.5, -1.7.

¹⁹F-NMR (376 MHz, MeOD-*d*₄, 300 K):

δ (ppm)=-77.4 (CF₃COO⁻), -114.5.

IR (ATR, neat):

ν [cm⁻¹]=2933 (br), 2815 (br), 1780 (s), 1737 (vs), 1605 (s), 1572 (vs).

^{19}F -NMR (376 MHz, CDCl_3 , 300 K):

δ (ppm)=-75.5 (CF_3COO^-), -113.9.

IR (ATR, neat):

ν [cm^{-1}]=3372 (br), 2925 (br), 1572 (vs).

Optical properties:

Solvent	$\lambda_{abs, max}$	λ_{em}	ϵ_{max}	Φ_F
DMSO	671 nm	687 nm	94 900 $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$	0.15
PBS ($pH=7.4$)	655 nm	671 nm	54 200 $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$	0.22

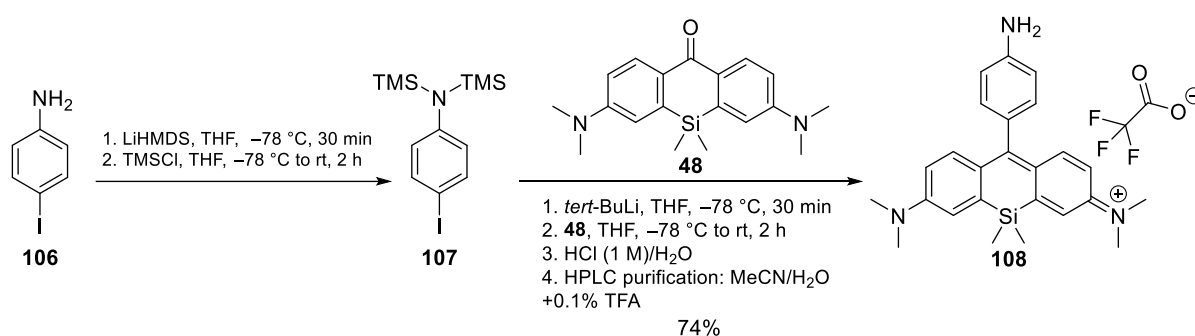
R_f value (DCM/MeOH 9:1)=0.14.

Retention time (system 7, HPLC 45–95)=4.56 min.

HR-ESI-MS in acetonitrile/water (+0.1% formic acid):

$\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{FN}_2\text{Si}^+$	calculated m/z	found m/z
$[\text{M}]^+$	403.2001	403.2007

5.2.21 The synthesis of Si-rhodamine 108^[200]



4-iodoaniline (**106**, 290 mg, 1.32 mmol, 1.0 eq.) was dissolved in a heat-dried round-bottom flask in anhydrous THF (10 mL) under an argon atmosphere. The colorless solution was cooled down to -78°C and LiHMDS (1 M in THF, 2.78 mL, 2.78 mmol, 2.1 eq.) was added dropwise to the solution. The color of the reaction mixture changed to dark brown. The reaction mixture was stirred for 15 minutes at -78°C and then the cooling bath was removed for five minutes to ensure complete deprotonation, before cooling down again to -78°C . After 10 minutes trimethylsilyl(TMS) chloride (302 mg, 2.78 mmol, 2.1 eq.) was added dropwise via a syringe to the dark orange solution at -78°C . After complete addition, the solution was

allowed to warm up to room temperature and was stirred for two hours under an argon atmosphere. Afterwards the solvent was removed under reduced pressure and then the brown oil was redissolved in anhydrous *n*-hexane (50 mL). Then the solution was filtrated and thereafter the solvent was removed under reduced pressure. The remaining brown oil of **107** was used without further purification and purity control for the next reaction step.

The TMS-protected aniline **107** (400 mg, 1.10 mmol, 3.27 eq.) was dissolved in a heat-dried round-bottom flask in anhydrous THF (5.50 mL) under an argon atmosphere. The brown solution was cooled down to $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ and was stirred for 20 minutes at $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. At $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ *tert*-butyllithium (1.6 M in pentane, 1.40 mL, 2.24 mmol, 6.67 eq.) was added dropwise to the reaction mixture. *CAUTION: solutions of tert-butyllithium react explosively with water and may ignite in moist air.* The resulting red solution was stirred for 30 minutes at $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Then the Si-xanthone **48** (100 mg, 336 μmol , 1.0 eq.) in anhydrous THF (10 mL) was added via a syringe within seconds to the reaction mixture at $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. A color change to dark orange was observed. After addition of **48**, the cooling bath was quickly removed and the reddish solution was stirred for three hours at room temperature which led to almost complete conversion of **48** (monitored by normal phase TLC: DCM/MeOH 9:1). Then hydrochloric acid (1 M, 5 mL) and deionized water (100 mL) were added to the red solution and the solution turned gradually dark blue. The blue solution was extracted with DCM (3x250 mL) until the aqueous solution became nearly colorless. The combined organic phases were washed with brine and were dried afterwards over sodium sulfate. After filtration, the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was then purified by flash column chromatography (silica gel, DCM/MeOH 99:1 to 88:12). The concentrated and combined fractions from the column were filtrated over cotton wool to afford the Si-rhodamine **48** as a blue solid. To increase the purity and to verify the counter ion as a trifluoroacetate ion the product was further purified by reverse-phase HPLC (10–90% MeCN/H₂O, linear gradient in 35 minutes, with constant 0.1% v/v TFA additive, *system 2*) to obtain the corresponding Si-rhodamine **108** (128 mg, 249 μmol , 74%) as a gleaming dark blue solid.

¹H-NMR (400 MHz, MeOD-*d*₄, 300 K):

δ (ppm)=7.39–7.13 (m, 8 H, H_{arom}), 6.78 (dd, *J*=9.7 Hz, 2.9 Hz, 2 H, H_{arom}), 3.33 (s, 12 H, N-CH₃), 0.58 (s, 6 H, Si-CH₃).

¹³C-NMR (101 MHz, MeOD-*d*₄, 300 K):

δ (ppm)=171.4, 155.6, 149.5, 143.4, 137.8, 132.3, 131.3, 129.2, 122.0, 118.6, 114.7, 40.8, -1.1.

$^{19}\text{F-NMR}$ (376 MHz, MeOD- d_4 , 300 K):

δ (ppm)=-76.9 (CF_3COO^-).

IR (ATR, neat):

ν [cm^{-1}]=2931 (br), 1733 (s), 1688 (s), 1572 (vs).

Optical properties:

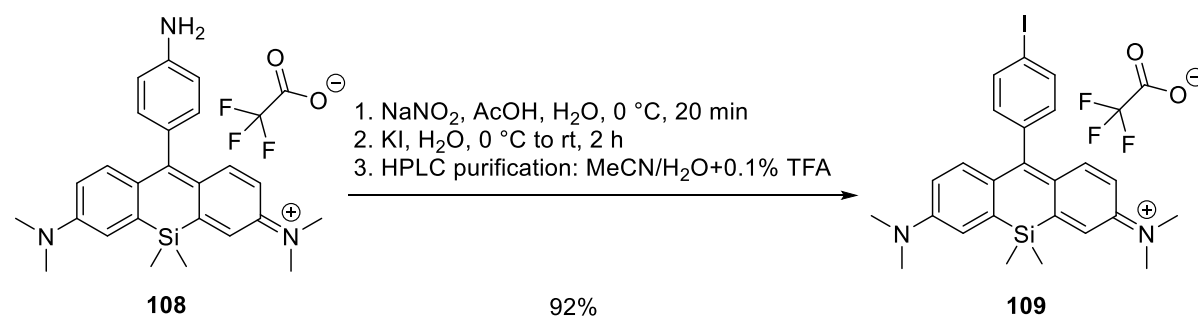
Solvent	$\lambda_{abs, max}$	λ_{em}	ϵ_{max}	Φ_F
DMSO	655 nm	683 nm	84 200 $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$	<0.01
PBS ($\text{pH}=7.4$)	644 nm	667 nm	69 100 $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$	<0.01

R_f value (DCM/MeOH 90:10)=0.52.

HR-ESI-MS in acetonitrile/water (+0.1% formic acid):

$\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{Si}^+$	calculated m/z	found m/z
$[\text{M}]^+$	400.2204	400.2204

5.2.22 The synthesis of Si-rhodamine 109



The amine-functionalized Si-rhodamine **108** (20 mg, 38.9 μmol , 1.0 eq.) was dissolved in a 2:1 ratio of acetic acid (2.00 mL) and deionized water (1.00 mL). The dark blue solution was cooled down to 0 °C and a solution of sodium nitrite (4.03 mg, 58.4 μmol , 1.5 eq.) in deionized water (100 μL) was added. The color changed from dark blue to a slightly green-blue solution. After 20 minutes, potassium iodide (12.9 mg, 77.8 μmol , 2.0 eq.) in deionized water (100 μL) was added at 0 °C. After 20 minutes, the cooling bath was removed. A color change back to a dark blue combined with gaseous bubbling was observed. Then the blue solution was stirred for two hours at room temperature. Subsequently the solvents were carefully removed under reduced pressure. The blue solution was diluted with DCM (50 mL) and deionized water (50 mL) and the two phases were transferred into a separation funnel. Afterwards the organic

5. Experimental Section

phase was separated. The aqueous phase was extracted with DCM (3x100 mL) until the aqueous solution became nearly colorless. The combined organic phases were washed with brine and dried over sodium sulfate. After filtration, the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified by flash column chromatography (silica gel, DCM/MeOH 99:1 to 95:5) to obtain Si-rhodamine **109** as a dark blue solid. For high purity and to verify the counter ion as a trifluoroacetate ion the product was purified by reverse-phase HPLC (30–90% MeCN/H₂O, linear gradient in 35 minutes, with constant 0.1% v/v trifluoroacetic acid additive, *system 2*) to afford the corresponding Si-rhodamine **109** (22.4 mg, 35.8 μ mol, 92%) as a dark blue solid.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 300 K):

δ (ppm)=7.87 (d, $J=7.7$ Hz, 2 H, H_{arom}), 7.19–7.08 (m, 4 H, H_{arom}), 6.99 (d, $J=7.8$ Hz, 2 H, H_{arom}), 6.61 (d, $J=9.3$ Hz, 2.9 Hz, 2 H, H_{arom}), 3.34 (s, 12 H, N-CH₃), 0.57 (s, 6 H, Si-CH₃).

¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃, 300 K):

δ (ppm)=168.3, 154.2, 148.8, 142.3, 138.5, 137.6, 131.2, 127.8, 121.4, 114.0, 94.8, 41.6, -0.3.

¹⁹F-NMR (376 MHz, CDCl₃, 300 K):

δ (ppm)=-75.6 (CF₃COO⁻).

IR (ATR, neat):

ν [cm⁻¹]=3076 (br), 2930 (br), 1687 (s), 1574 (vs).

Optical properties:

Solvent	$\lambda_{abs, max}$	λ_{em}	ϵ_{max}	Φ_F
DMSO	663 nm	681 nm	83 900 M ⁻¹ cm ⁻¹	0.12
PBS ($pH=7.4$)	648 nm	667 nm	41 100 M ⁻¹ cm ⁻¹	0.14

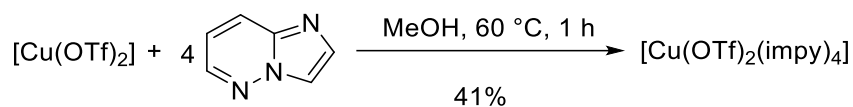
R_f value (DCM/MeOH 90:10)=0.65.

R_f value (DCM/MeOH 95:5)=0.12.

Retention time (*system 7*, HPLC 25–75)=25.04 min.

HR-ESI-MS in acetonitrile/water (+0.1% formic acid):

C ₂₅ H ₂₈ IN ₂ Si ⁺	calculated m/z	found m/z
[M] ⁺	511.1061	511.1066

5.2.23 The synthesis of copper complex $[\text{Cu}(\text{OTf})_2(\text{impy})_4]$ ^[308]

Under slightly modified conditions the copper complex was synthesized.^[308] Copper(II) trifluoromethanesulfonate (500 mg, 1.38 mmol, 1.0 eq.) was dissolved in anhydrous methanol (3 mL) under an argon atmosphere. The slightly blue solution was warmed up to 60 °C. Afterwards the ligand imidazo[1,2-*b*]pyridazine (663 mg, 5.57 mmol, 4.0 eq.) dissolved in anhydrous methanol (1 mL) was added. A change to blue of the reaction mixture was observed. The blue solution was stirred for one hour at 60 °C. Then the reaction mixture was allowed to cool down to room temperature and the solvent was removed under reduced pressure. Subsequently the blue residue was washed with diethyl ether (50 mL), DCM (10 mL) and DCM/MeOH: 9:1 (5 mL). The blue solid was dried at high vacuum for nine hours at 60 °C and then over night at room temperature. Tetrakis(imidazo[1,2-*b*]pyridazine)copper(II)triflate (477 mg, 569 μmol, 41%) was obtained as a pale blue solid.

Elemental analysis:

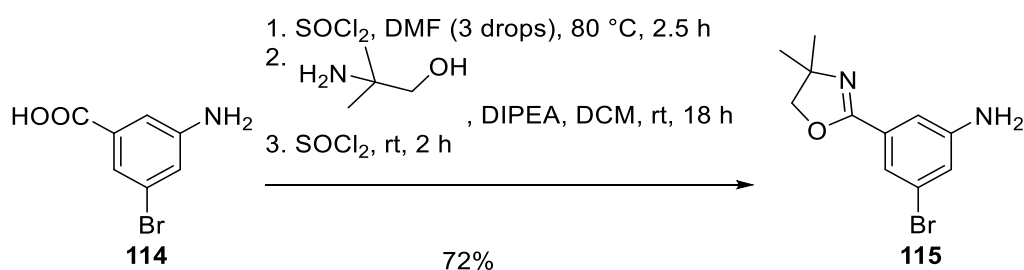
$\text{C}_{26}\text{H}_{20}\text{CuF}_6\text{N}_{12}\text{O}_6\text{S}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ($M=856.20$ g/mol)

Calculated: C: 36.47%, H: 2.59%, N: 19.63%, S: 7.49%

Found: C: 36.71%, H: 2.40%, N: 19.70%, S: 7.58%.

IR (ATR, neat):

ν [cm^{-1}]=3168 (br), 3117 (br), 3066 (w), 1619 (s), 1541 (s), 1504 (s).

5.2.24 Synthesis of 3-bromo-5-(4,4-dimethyl-4,5-dihydrooxazol-2-yl)aniline (**115**)^[153]

The benzoic acid **114** (1.00 g, 4.63 mmol, 1.0 eq.) was suspended in thionyl chloride (5 mL) under an argon atmosphere. The colorless suspension was warmed up to 70 °C. After 10 minutes three drops of anhydrous dimethyl formamide (DMF) were added to the

suspension. A gas bubbling was observed and the yellow solids went into solution within 30 minutes. The yellow reaction mixture was stirred for two hours at 70 °C. Afterwards the thionyl chloride was removed by distillation and the yellow residue was removed after azeotrope drying steps with anhydrous DCM (3x10 mL). Afterwards the yellow oil was dried under high vacuum for two hours. In a separate heat-dried round-bottom flask 2-amino-2-methylpropan-1-ol (619 mg, 6.94 mmol, 1.5 eq.) was dissolved in anhydrous DCM (10 mL) and *N,N*-diisopropylethylamine (1.61 mL, 9.25 mmol, 2 eq) was added. The solution was cooled down to 0 °C. Then the acid chloride in anhydrous DCM (10 mL) was added dropwise to the solution of 2-amino-2-methylpropan-1-ol at 0 °C. After complete addition the cooling bath was removed. The round-bottom flask was sealed and was stirred over night at room temperature. Subsequently the brown solution was diluted with DCM (200 mL), deionized water (50 mL) and was transferred into a separation funnel. Then the organic phase was separated. The aqueous phase was extracted with DCM (3x150 mL). The combined organic phases were washed with brine and dried over sodium sulfate. After filtration, the solvent was removed under reduced pressure. Then the residue was cooled down to 0 °C. Subsequently thionyl chloride (3 mL) was added dropwise via a syringe to the brown residue at 0 °C. The cooling bath was removed and the dark yellow solution was stirred for two hours at room temperature. Afterwards the thionyl chloride was removed via distillation. The brown solution was diluted with DCM (100 mL), water (100 mL) and was transferred then into a separation funnel. The organic phase was separated. The aqueous phase was extracted with DCM (3x200 mL). The combined organic phases were washed with brine and dried over sodium sulfate. After filtration, the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified by flash column chromatography (silica gel, DCM/MeOH 99:1 to 97:3) to obtain the oxazoline **115** (897 mg, 3.33 mmol, 72%) as a yellow oil.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 300 K):

δ (ppm)=7.44 (t, *J*=1.6 Hz, 1 H, H_{arom}), 7.29–7.26 (m, 1 H, H_{arom}), 6.93 (t, *J*=2.0 Hz, 1 H, H_{arom}), 4.14 (s, 2 H, CH₂), 3.34 (s, 6 H, CH₃).

¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃, 300 K):

δ (ppm)=161.3, 147.7, 130.6, 123.0, 121.2, 120.3, 113.4, 79.4, 67.8, 28.5.

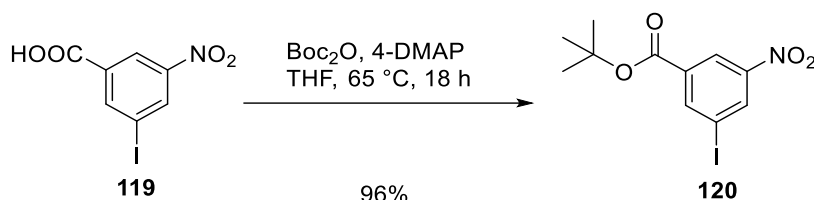
IR (ATR, neat):

ν [cm⁻¹]=3334 (br, m), 3212 (br, m), 2966 (s), 2928 (w), 2893 (w), 1644 (vs), 1598 (vs), 1565 (vs).

R_f value (DCM/MeOH 9:1)=0.24.

HR-ESI-MS in DCM/MeOH:

$C_{11}H_{13}^{79}Br^{81}BrN_2O$	calculated m/z	found m/z
$[2M+H]^+$	539.0475	539.0475

5.2.25 Synthesis of *tert*-butyl 3-iodo-5-nitrobenzoate (**120**)^[320]

The 3-iodo-5-nitrobenzoic acid (**119**) (1.00 g, 3.41 mmol, 1.0 eq.) was added to a heat-dried round-bottom flask under an argon atmosphere. Then di-*tert*-butyl dicarbonate (2.22 g, 10.2 mmol, 3.0 eq.) and 4-dimethylaminopyridine (4-DMAP, 99.3 mg, 812 μ mol, 0.24 eq.) were added as solids to the benzoic acid. All the solids were dissolved in anhydrous THF (10 mL). Then the solution was heated to 65 °C and was stirred over night. Afterwards the yellow solution was allowed to cool down to room temperature and the solvent was removed under reduced pressure. The residue was dissolved in ethyl acetate (200 mL) and deionized water (100 mL) was added. The two phases were added into a separation funnel and the organic phase was separated. The aqueous phase was extracted with ethyl acetate (3x150 mL). The combined organic phases were washed with brine and dried over sodium sulfate. After filtration, the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified by flash column chromatography (silica gel, *n*-hexane/ethyl acetate 99:1 to 95:5) to obtain the *tert*-butyl 3-iodo-5-nitrobenzoate (**120**) (1.15 g, 3.29 mmol, 96%) as a colorless solid.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 300 K):

δ (ppm)=8.73 (dt, $J=2.2$ Hz, 1.1 Hz, 1 H, H_{arom}), 8.69 (dq, $J=1.6$ Hz, 0.9 Hz, 1 H, H_{arom}), 8.62–8.59 (m, 1 H, H_{arom}), 1.62 (s, 9 H, CH₃).

¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃, 300 K):

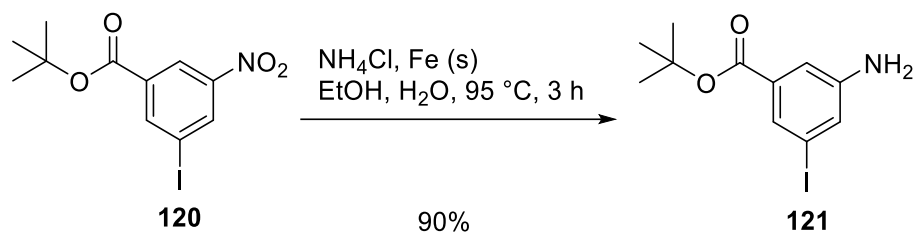
δ (ppm)=162.2, 148.6, 144.1, 135.8, 135.2, 123.8, 93.3, 83.5, 28.2.

IR (ATR, neat):

ν [cm⁻¹]=3094 (w), 3084 (w), 3013 (w), 2979 (m), 2933 (w), 2359 (w), 1708 (vs), 1605 (m), 1533 (vs).

R_f value (n-hexane/ethyl acetate 9:1)=0.65.

5.2.26 Synthesis of *tert*-butyl 3-amino-5-iodobenzoate (**121**)^[325]



The *tert*-butyl 3-iodo-5-nitrobenzoate (**120**) (800 mg, 2.29 mmol, 1 eq.) was dissolved in ethanol (50 mL) and deionized water (50 mL) was added. Then ammonium chloride (1.42 g, 26.5 mmol, 11.6 eq.) and iron powder (444 mg, 7.95 mmol, 3.47 eq.) were added to the colorless suspension. The resulting black suspension was stirred for three hours at $95\text{ }^\circ\text{C}$. After complete consumption of **120** (monitored by normal phase TLC: *n*-hexane/ethyl acetate 9:1) the black suspension was filtrated over a short pad of Celite[®] to remove the iron powder. The colorless solution was transferred into a separation funnel and the organic phase was separated. Afterwards the aqueous phase was extracted with ethyl acetate (3x200 mL). The combined organic phases were washed with brine and dried over sodium sulfate. After filtration, the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified by flash column chromatography (silica gel, *n*-hexane/ethyl acetate 9:1 to 6:4) to obtain the *tert*-butyl 3-amino-5-iodobenzoate (**121**) (656 mg, 2.06 mmol, 90%) as a yellow oil.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl_3 , 300 K):

δ (ppm)=7.74 (t, $J=1.5\text{ Hz}$, 1 H, H_{arom}), 7.33 (dd, $J=2.3\text{ Hz}$, 1.3 Hz, 1 H, H_{arom}), 7.27 (dd, $J=2.3\text{ Hz}$, 1.5 Hz, 1 H, H_{arom}), 1.57 (s, 9 H, CH_3).

¹³C-NMR (101 MHz, CDCl_3 , 300 K):

δ (ppm)=164.3, 145.7, 134.8, 129.6, 128.2, 116.3, 94.4, 81.8, 28.3.

IR (ATR, neat):

ν [cm^{-1}]=3470 (br, m), 3374 (br, m), 3232 (w), 2976 (s), 2930 (w), 1699 (vs), 1620 (s), 1595 (vs), 1566 (vs).

R_f value (n-hexane/ethyl acetate 9:1)=0.14.

HR-ESI-MS in acetonitrile/water (+0.1% formic acid):

C ₁₁ H ₁₄ INO ₂	calculated <i>m/z</i>	found <i>m/z</i>
[M+H] ⁺	320.0142	320.0145
[M-(<i>tert</i> -Bu)+H] ⁺	263.9516	263.9517
[M-I] ⁺	138.0550	138.0550

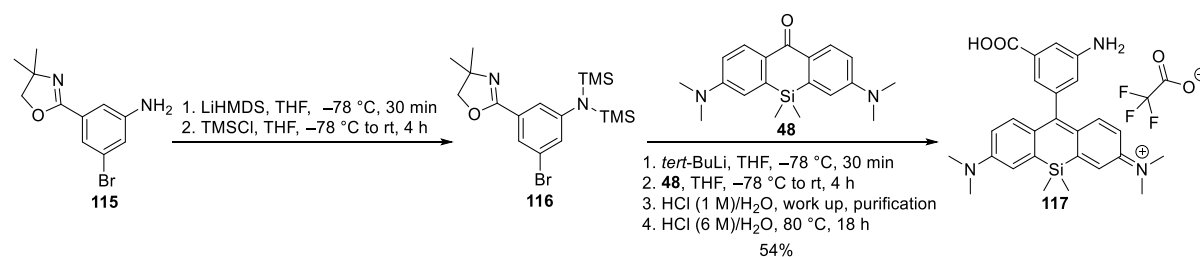
5.2.27 General procedure for the synthesis of TMS-protected anilines^[200]

The anilines **115** or **121** were dissolved in a heat-dried round-bottom flask in anhydrous tetrahydrofuran (0.2 mM) under an argon atmosphere. Then the solution was cooled down to -78 °C and LiHMDS (1 M in THF) was added dropwise to the solution. After complete addition, a dark orange solution was observed. Subsequently the reaction mixture was stirred for 10 minutes at -78 °C and then the cooling bath was removed for five minutes to fulfill complete deprotonation, before cooling down again to -78 °C. After 10 minutes trimethylsilyl(TMS) chloride (2.1 eq.) was added dropwise via a syringe to the dark red solution. After complete addition, the solution was warmed up to room temperature and was stirred for four hours under an argon atmosphere. Then the solvent was removed under reduced pressure. The resulting oil was dissolved in anhydrous *n*-hexane (50 mL) and the solution was filtrated. Thereafter the solvent was removed under reduced pressure. The residue was dried under high vacuum. Then the oil was used directly without further purification and purity control for the next reaction step.

The TMS-protected anilines **116** or **122** (1 eq.) were dissolved in a heat-dried round-bottom flask in anhydrous THF (0.20 mM) under an argon atmosphere. Then the reddish solution was cooled down to -78 °C and was stirred for further 10 minutes at -78 °C. At -78 °C *tert*-butyllithium (1.6 M in pentane) was carefully added dropwise to the solution. *CAUTION: solutions of tert-butyllithium react explosively with water and may ignite in moist air.* The orange solution was stirred for further 30 minutes at -78 °C. Afterwards the Si-xanthone **48** was dissolved in anhydrous tetrahydrofuran (10 mL) and was added via a syringe within seconds to the reaction mixture at -78 °C. After complete addition of **48**, the cooling bath was quickly removed and the reddish solution was stirred for four hours which led to almost complete conversion of **48** (monitored by normal phase TLC: DMC/MeOH 9:1). Then hydrochloric acid (1 M, 5 mL) and deionized water (100 mL) were added to the red solution and the solution turned gradually dark blue. The two phases were transferred into a separation funnel. Then the dark solution was extracted with DCM (3x200 mL) until the aqueous solution became nearly colorless. The combined organic phases were washed with brine and were dried over sodium sulfate. After filtration, the solvent was removed under reduced pressure.

Then the resulting blue crude products were purified by flash column chromatography. The concentrated and combined fractions from the column were filtrated over cotton wool to afford the crude Si-rhodamine **117** or **123** as a dark blue solid.

5.2.27.1 Synthesis of Si-rhodamine **117**



According to the general procedure 5.2.27 3-bromo-5-(4,4-dimethyl-4,5-dihydrooxazol-2-yl)aniline (**115**) (253 mg, 940 μmol , 1 eq.) was dissolved in anhydrous THF (4.70 mL) and was cooled down to $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Then LiHMDS (1 M in THF, 1.97 mL, 1.97 mmol, 2.1 eq.) was added and after the mentioned reaction time trimethylsilyl chloride (250 μL , 1.97 mmol, 2.1 eq.) was added. After work up, the TMS-protected aniline **116** was used without further purification. **116** was dissolved in anhydrous THF (4.70 mL) and was cooled down again to $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. At $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ *tert*-butyllithium (1.6 M in pentane, 1.04 mL, 1.68 mmol, 2.1 eq.) was added dropwise to the solution. After the mentioned reaction time the Si-xanthone **48** (108 mg, 333 μmol , 0.35 eq.) was added at $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. After the addition of hydrochloric acid (1 M, 5 mL) and aqueous work up the purification on silica gel was performed (silica gel, DCM/MeOH 99:1 to 80:20). After filtration, of the purified fraction over a cotton wool and the evaporation of the solvents under reduced pressure the protected Si-Rhodamine was dissolved in a solution of hydrochloric acid (6 M, 5 mL). For complete deprotection, the aqueous brown solution was heated to $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ and was stirred over night. Subsequently the acidic solution was dissolved in deionized water (100 mL) and a saturated solution of sodium bicarbonate (20 mL) was carefully added dropwise to the acidic solution. Afterwards the dark blue solution was transferred into a separation funnel. The dark solution was extracted with a mixture of chloroform and 2-propanol (3:1; 3x100 mL) until the aqueous solution became nearly colorless. The combined organic phases were washed with brine and were dried over sodium sulfate. After filtration, the solvent was removed under reduced pressure. The residue was dissolved in DCM/MeOH (95:5) and was filtrated over cotton wool to afford the crude Si-rhodamine **117** as a dark blue solid. The crude product was purified by reverse-phase HPLC (10–90% MeCN/ H_2O , linear gradient in 35 minutes, with constant 0.1% v/v TFA additive, system 2) to obtain the corresponding Si-rhodamine **117** (100 mg, 180 μmol , 54%) as a dark blue solid.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, MeOD- d_4 , 300 K):

δ (ppm)=7.50 (dd, $J=2.3$ Hz, 1.4 Hz, 1 H, H_{arom}), 7.34 (d, $J=2.8$ Hz, 2 H, H_{arom}), 7.29 (s, 1 H, H_{arom}), 7.27 (s, 1 H, H_{arom}), 7.12 (q, $J=1.7$ Hz, 1 H, H_{arom}), 6.82 (d, $J=2.9$ Hz, 1 H, H_{arom}), 6.81–6.73 (m, 2 H, H_{arom}), 3.35 (s, 12 H, N- CH_3), 0.60 (s, 3 H, Si- CH_3), 0.59 (s, 3 H, Si- CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, MeOD- d_4 , 300 K):

δ (ppm)=190.4, 169.3, 161.8, 155.7, 149.6, 143.2, 143.1, 141.6, 132.9, 128.7, 128.6, 125.9, 122.2, 122.1, 121.4, 118.2, 117.1, 115.0, 114.9, 40.9, -0.3.

$^{19}\text{F-NMR}$ (376 MHz, CDCl_3 , 300 K):

δ (ppm)=-75.4 (CF_3COO^-).

IR (ATR, neat):

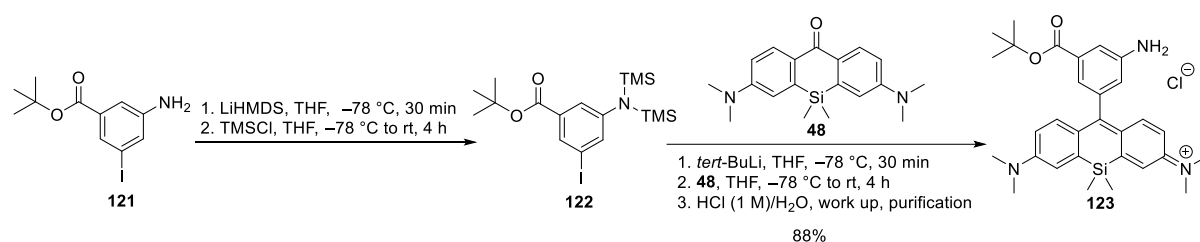
ν [cm^{-1}]=3359 (br, m), 2929 (br, m), 1693 (s), 1573 (vs).

R_f value (DCM/MeOH 9:1)=0.09.

HR-ESI-MS in MeCN+0.1% formic acid:

$\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{O}_2\text{Si}^+$	calculated m/z	found m/z
$[\text{M}]^+$	444.2102	444.2102

5.2.27.2 Synthesis of Si-rhodamine 123



According to the general procedure 5.2.27 *tert*-butyl 3-amino-5-iodobenzoate (**121**) (174 mg, 545 μmol , 1 eq.) was dissolved in anhydrous THF (2.73 mL) and was cooled down to -78°C . Then LiHMDS (1 M in THF, 1.34 mL, 1.34 mmol, 2.46 eq.) was added and after the mentioned reaction time trimethylsilyl chloride (170 μL , 1.34 mmol, 2.46 eq.) was added dropwise to the reaction mixture. After work up, the TMS-protected aniline **122** was used without further purification. **122** was dissolved in anhydrous THF (2.73 mL) and was cooled again to -78°C . At -78°C *tert*-butyllithium (1.6 M in pentane, 800 μL , 1.28 mmol, 2.35 eq.) was added dropwise to the solution. As described above the Si-xanthone **48** (106 mg, 327 μmol , 0.60 eq.)

5. Experimental Section

was then added at $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. After the addition of hydrochloric acid (1 M, 5 mL) and aqueous work up the purification on silica gel was performed (silica gel, DCM/MeOH 99:1 to 92:8) to obtain the protected Si-rhodamine **123** (154 mg, 288 μmol , 88%) as a dark blue solid.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , 300 K):

δ (ppm)=7.38 (s, 1 H, H_{arom}), 7.26 (d, $J=9.6\text{ Hz}$, 2 H, H_{arom}), 7.14 (d, $J=2.9\text{ Hz}$, 3 H, H_{arom}), 6.85 (t, $J=2.0\text{ Hz}$, 1 H, H_{arom}), 6.63 (dd, $J=9.6\text{ Hz}$, 2.9 Hz, 2 H, H_{arom}), 3.37 (s, 12 H, CH_3), 1.57 (s, 9 H, CH_3), 0.63 (s, 3 H, CH_3), 0.59 (s, 3 H, CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3 , 300 K):

δ (ppm)=170.0, 165.5, 154.2, 148.6, 147.0, 143.0, 139.8, 133.0, 127.9, 120.8, 119.6, 116.0, 114.0, 81.6, 41.4, 28.3, -0.3, -0.6.

IR (ATR, neat):

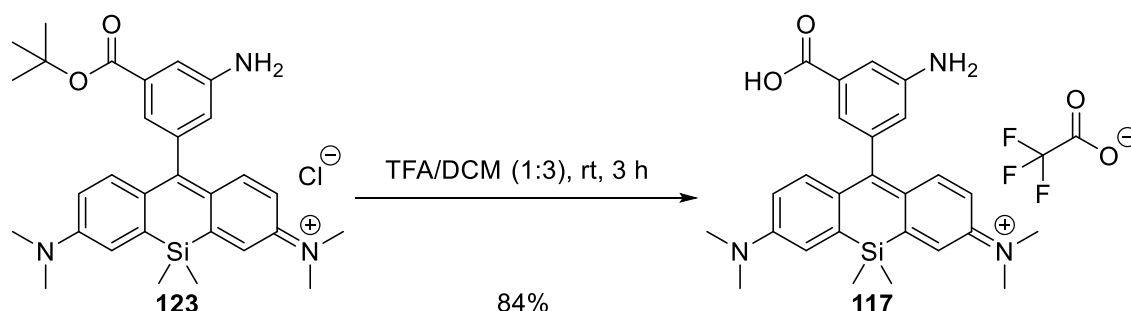
ν [cm^{-1}]=3307 (br, m), 2927 (br, m), 1704 (m), 1573 (vs).

R_f value (DCM/MeOH 9:1)=0.41.

HR-ESI-MS in DCM/MeOH:

$\text{C}_{30}\text{H}_{38}\text{N}_3\text{O}_2\text{Si}^+$	calculated m/z	found m/z
$[\text{M}]^+$	500.2728	500.2726

5.2.28 Synthesis of Si-rhodamine 117

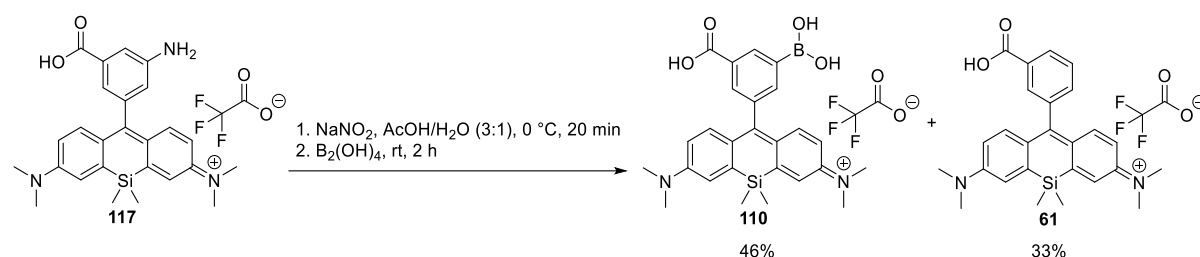


The Si-rhodamine **123** (100 mg, 187 μmol , 1 eq.) was dissolved in anhydrous DCM (1.50 mL) and trifluoroacetic acid (0.50 mL) was added. The dark blue solution turned to a brown solution immediately. The reaction mixture was stirred for three hours at room temperature until the starting material was completely converted (monitored by normal phase TLC: DMC/MeOH 9:1). Afterwards the solvents were removed by reduced pressure. The dark blue residue was dissolved in a mixture of deionized water/acetonitrile (1:3; 2 mL) and was purified by reverse-

phase HPLC (10–90% MeCN/H₂O, linear gradient in 35 minutes, with constant 0.1% v/v TFA additive, *system 2*) to obtain the corresponding Si-rhodamine **117** (87.6 mg, 157 μmol, 84%) as a dark blue solid.

The analytical data are consistent with the data of the previous reaction (5.2.27.1).

5.2.29 Synthesis of Si-rhodamine **110**^[321]



The synthesis procedure was performed based on literature under slightly modified conditions.^[321] The amine-functionalized Si-rhodamine **117** (21 mg, 43.7 μmol, 1 eq.) was dissolved in a 3:1 mixture of acetic acid (0.60 mL) and deionized water (0.20 mL). The dark blue solution was cooled down to 0 °C and sodium nitrite (4.50 mg, 65.6 μmol, 1.5 eq.) dissolved in deionized water (100 μL) was added. The color changed from dark blue to a slightly green-blue solution. After 20 minutes tetrahydroxydiboron (32.8 mg, 87.4 μmol, 2.0 eq.) dissolved in acetic acid (100 μL) was added at 0 °C. A color change back to a dark blue combined with gradual bubbling was observed. The reaction mixture was allowed to warm to room temperature. Subsequently the solvents were carefully removed under reduced pressure. The reaction mixture was diluted with chloroform (100 mL) and water (20 mL) and was transferred into a separation funnel. Afterwards the organic phase separated. The aqueous phase was extracted with a mixture of chloroform and 2-propanol (3:1; 3x100 mL). The combined organic phases were washed with brine and dried over sodium sulfate. After filtration, the solvents were removed under reduced pressure. The crude product was dissolved in a mixture of deionized water/acetonitrile (1:1; 4 mL) and was purified by reverse-phase HPLC (10–90% MeCN/H₂O, linear gradient in 35 minutes, with constant 0.1% v/v TFA additive, *system 2*) to obtain the corresponding Si-rhodamine **110** (11.8 mg, 20.1 μmol, 46%) after the removal of the solvents as dark blue solids. As a byproduct the protodeboronated Si-rhodamine **61** was observed in a side reaction (7.82 mg, 14.4 μmol, 33%). The analytical data of the byproduct **61** is consistent with the data in 5.2.4.3.

5. Experimental Section

¹H-NMR (400 MHz, MeOD-*d*₄, 300 K):

δ (ppm)=8.55 (s, 1 H, H_{arom}), 7.89 (s, 1 H, H_{arom}), 7.76 (s, 1 H, H_{arom}), 7.37 (d, *J*=2.9 Hz, 2 H, H_{arom}), 7.07 (d, *J*=9.6 Hz, 2 H, H_{arom}), 6.78 (dd, *J*=9.6 Hz, 2.9 Hz, 2 H, H_{arom}), 3.35 (s, 12 H, N-CH₃), 0.62 (s, 3 H, Si-CH₃), 0.61 (s, 3 H, Si-CH₃).

¹³C-NMR (101 MHz, MeOD-*d*₄, 300 K):

δ (ppm)=169.1, 155.7, 149.6, 143.0, 140.2, 139.8, 135.9, 132.8, 131.3, 128.9, 128.8, 122.3, 115.1, 40.9, -1.1.

¹¹B-NMR (128 MHz, MeOD-*d*₄, 300 K):

δ (ppm)=24.5.

¹⁹F-NMR (376 MHz, MeOD-*d*₄, 300 K):

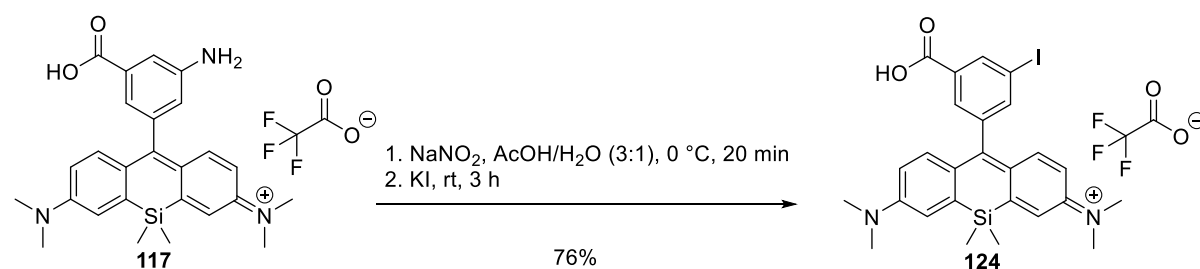
δ (ppm)=-77.0 (CF₃COO⁻).

*R*_f value (DCM/MeOH 9:1)=0.11.

HR-ESI-MS in acetonitrile (+0.1% formic acid):

C ₂₆ H ₃₀ BN ₂ O ₄ Si ⁺	calculated <i>m/z</i>	found <i>m/z</i>
[M] ⁺	473.2063	473.2066

5.2.30 Synthesis of Si-rhodamine 124



The amine-functionalized Si-rhodamine **117** (23 mg, 47.9 μmol, 1 eq.) was dissolved in a 3:1 mixture of acetic acid (0.90 mL) and deionized water (0.30 mL). The dark blue solution was cooled down to 0 °C and sodium nitrite (3.30 mg, 71.9 μmol, 1.5 eq.) dissolved in deionized water (100 μL) was added. The color changed from dark blue to a slightly green-blue solution. After 20 minutes potassium iodide (15.9 mg, 95.8 μmol, 2.0 eq.) dissolved in acetic acid (100 μL) was added at 0 °C. A color change back to a dark blue combined with gradual bubbling was observed. The reaction mixture was allowed to warm up to room temperature. Afterwards the solvents were removed under reduced pressure. The resulting

solution was diluted with DCM (200 mL), water (50 mL) and was transferred into a separation funnel. Afterwards the organic phase was separated. The aqueous phase was extracted with DCM (3x100 mL). The combined organic phases were washed with brine and dried over sodium sulfate. After filtration, the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was dissolved in a mixture of deionized water/acetonitrile (1:3; 2 mL) and was purified by reverse-phase HPLC (30–90% MeCN/H₂O, linear gradient in 35 minutes, with constant 0.1% v/v TFA additive, *system 2*) to obtain the corresponding Si-rhodamine **124** (11.8 mg, 20.1 μ mol, 46%) after the removal of the solvents as dark blue solids.

¹H-NMR (400 MHz, MeOD-*d*₄, 300 K):

δ (ppm)=8.54 (s, 1 H, H_{arom}), 7.87 (d, *J*=12 Hz, 2 H, H_{arom}), 7.38 (d, *J*=2.9 Hz, 1.5 Hz, 2 H, H_{arom}), 7.07 (d, *J*=9.7 Hz, 2 H, H_{arom}), 6.82 (dd, *J*=9.7 Hz, 2.8 Hz, 2 H, H_{arom}), 3.36 (s, 12 H, N-CH₃), 0.61 (s, 6 H, Si-CH₃).

¹³C-NMR (101 MHz, MeOD-*d*₄, 300 K):

δ (ppm)=167.3, 166.8, 155.8, 149.6, 142.9, 142.7, 139.8, 133.9, 130.7, 128.6, 122.5, 115.3, 94.6, 40.9, -1.1.

¹⁹F-NMR (376 MHz, MeOD-*d*₄, 300 K):

δ (ppm)=-77.0 (CF₃COO⁻).

*R*_f value (DCM/MeOH 9:1)=0.38.

HR-ESI-MS in DCM/MeOH:

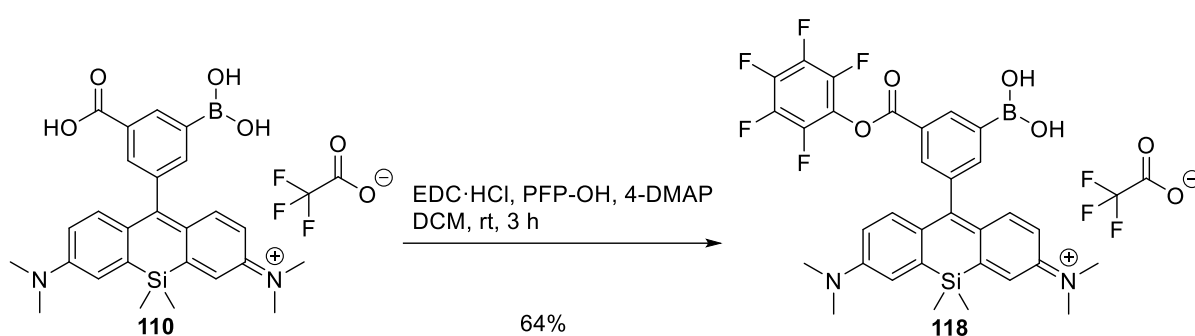
C ₂₆ H ₂₈ IN ₂ O ₂ Si ⁺	calculated <i>m/z</i>	found <i>m/z</i>
[M] ⁺	555.0960	555.0960

5.2.31 General procedure for the synthesis of PFP-protected Si-rhodamines^[324]

The carboxylic acid-functionalized Si-rhodamines **110** or **124** (1 eq) were added to a heat-dried flask and were dissolved in anhydrous DCM (2 mL) under an argon atmosphere. Then a solution of 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride (EDC·HCl; 1.5 eq.), 4-(dimethylamino)pyridine (4-DMAP, 1 eq.) and pentafluorophenol (PFP-OH; 2 eq.) dissolved in anhydrous DCM (2 mL) was added to the blue solution of Si-rhodamine **110** or **124**. The reaction mixture was stirred for three hours at room temperature. Afterwards the dark blue solution was diluted with deionized DCM (100 mL), water (50 mL) and was transferred

into a separation funnel. Then the organic phase was separated. The aqueous phase was extracted with DCM (3x50 mL) until the aqueous solution became nearly colorless. The combined organic phases were washed with brine and were dried over sodium sulfate. After filtration, the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified by reverse-phase HPLC (30–90% MeCN/H₂O, linear gradient in 35 minutes, with constant 0.1% v/v TFA additive, *system 2*) to afford the corresponding Si-rhodamines **118** or **128** after the removal of the solvents as dark blue solids.

5.2.31.1 Synthesis of Si-rhodamine **118**



The Si-rhodamine **118** was synthesized starting from the boronic acid-functionalized Si-rhodamine **110** (20 mg, 32.1 μmol , 1.0 eq.) with EDC·HCl (9.53 mg, 48.2 μmol , 1.5 eq.), PFP-OH (10.7 mg, 64.3 μmol , 2 eq.) and 4-DMAP (3.91 mg, 32.1 μmol , 1 eq.) in anhydrous DCM (2 mL) according to the general procedure 5.2.31. **118** was finally obtained as a dark blue solid (15.5 mg, 20.5 μmol , 64%) after HPLC purification.

¹H-NMR (400 MHz, MeOD-*d*₄, 300 K):

δ (ppm)=8.75 (s, 1 H, H_{arom}), 8.09 (s, 1 H, H_{arom}), 7.96 (s, 1 H, H_{arom}), 7.39 (s, 2 H, H_{arom}), 7.08 (d, *J*=9.6 Hz, 2 H, H_{arom}), 6.81 (d, *J*=12.0 Hz, 2 H, H_{arom}), 3.36 (s, 12 H, N-CH₃), 0.62 (s, 6 H, Si-CH₃).

¹³C-NMR (101 MHz, MeOD-*d*₄, 300 K):

δ (ppm)=167.9, 167.3, 163.7, 159.5, 155.2, 149.6, 142.8, 141.0, 129.5, 128.9, 128.5, 127.6, 123.9, 123.0, 122.5, 122.4, 122.3, 122.2, 118.1, 115.2, 40.9, -1.1, -1.2.

¹¹B-NMR (128 MHz, MeOD-*d*₄, 300 K):

δ (ppm)=28.4.

^{19}F -NMR (376 MHz, MeOD- d_4 , 300 K):

δ (ppm)=-77.3 (CF₃COO⁻), -155.5 (d, J =17.0 Hz), -160.9 (t, J =20.8 Hz), -165.5 (t, J =18.7 Hz).

IR (ATR, neat):

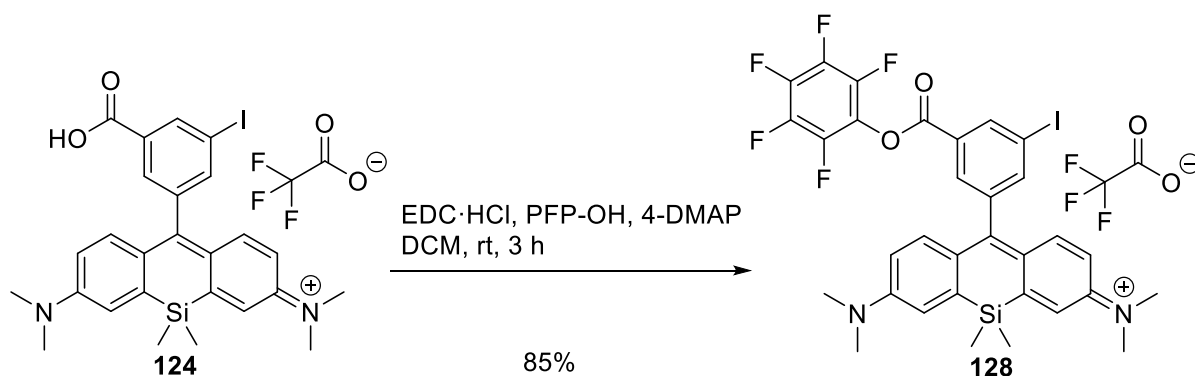
ν [cm⁻¹]=3066 (br, m), 2929 (br, m), 1673 (s), 1575 (vs).

R_f value (DCM/MeOH 9:1)=0.05.

HR-ESI-MS in DCM/MeOH:

C ₃₂ H ₂₉ BF ₅ N ₂ O ₄ Si ⁺	calculated m/z	found m/z
[M] ⁺	639.1905	639.1904
[M+CH ₃] ⁺	653.2061	653.2060
[M+2CH ₃] ⁺	667.2218	667.2216

5.2.31.2 Synthesis of Si-rhodamine **128**



The Si-rhodamine **128** was synthesized starting from the iodinated Si-rhodamine **124** (10 mg, 14.2 μmol , 1.0 eq.) with EDC·HCl (4.08 mg, 21.3 μmol , 1.5 eq.), PFP-OH (5.23 mg, 28.4 μmol , 2 eq.) and 4-DMAP (1.73 mg, 14.2 μmol , 1 eq.) in anhydrous DCM (2 mL) according to the general procedure 5.2.31. **128** was finally obtained as a dark blue solid (10.1 mg, 12.1 μmol , 85%) after HPLC purification.

^1H -NMR (400 MHz, MeOD- d_4 , 300 K):

δ (ppm)=8.74 (s, 1 H, H_{arom}), 8.08 (d, J =5.5 Hz, 2 H, H_{arom}), 7.40 (d, J =2.8 Hz, 2 H, H_{arom}), 7.09 (d, J =9.6 Hz, 2 H, H_{arom}), 6.85 (dd, J =9.6 Hz, 2.9 Hz, 2 H, H_{arom}), 3.37 (s, 12 H, N-CH₃), 0.62 (s, 3 H, Si-CH₃), 0.61 (s, 3 H, Si-CH₃).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, MeOD- d_4 , 300 K):

δ (ppm)=170.1, 165.7, 162.5, 162.1, 155.8, 149.6, 145.0, 143.6, 142.6, 142.6, 140.4, 131.3, 130.4, 129.9, 128.6, 122.7, 119.4, 115.4, 115.3, 95.2, 41.0, -1.1, -1.2.

$^{19}\text{F-NMR}$ (376 MHz, MeOD- d_4 , 300 K):

δ (ppm)=-77.1 (CF_3COO^-), -155.2 (d, $J=17.0$ Hz), -160.5 (t, $J=20.8$ Hz), -165.5 (t, $J=18.7$ Hz).

R_f value (DCM/MeOH 99:1)=0.25.

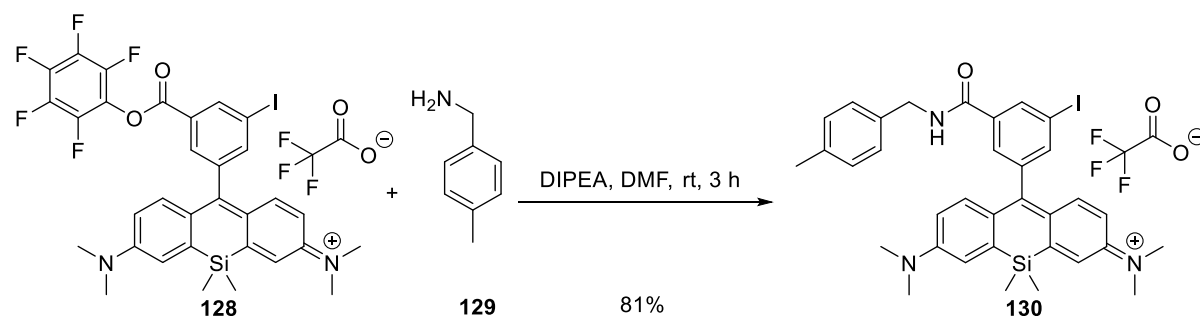
HR-ESI-MS in MeCN+0.1% formic acid:

$\text{C}_{32}\text{H}_{27}\text{F}_5\text{IN}_2\text{O}_2\text{Si}^+$	calculated m/z	found m/z
$[\text{M}]^+$	721.0802	721.0801

5.2.32 General procedure for amide formation by using PFP-protected Si-rhodamines^[324]

The pentafluorophenyl ester (1 eq.) was dissolved in anhydrous DMF (1 mL) under an argon atmosphere. Then a mixture of the primary amine (1.5–2. eq.) and *N,N*-diisopropylethylamine (DIPEA; 4–6 eq.) in DMF was added to the blue solution in one portion. The blue reaction mixture was stirred for three hours at room temperature. After complete conversion (monitored by HPLC: *system 7* and ESI-MS: positive modus) the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified by reverse-phase HPLC (10–90% MeCN/ H_2O , linear gradient in 35 minutes, with constant 0.1% v/v TFA additive, *system 2*) to obtain the respective amide-functionalized Si-rhodamines **130**, **132** and **134** after the removal of the solvents as dark blue solids.

5.2.32.1 Synthesis of Si-rhodamine **130**



The Si-rhodamine **130** was synthesized starting from the pentafluorophenyl ester substituted Si-rhodamine **128** (3.50 mg, 4.97 μmol , 1.0 eq.), 4-methylbenzylamine (**129**) (1.20 mg, 9.94 μmol , 2 eq.) and DIPEA (3.46 μL , 19.9 μmol , 4 eq.) in anhydrous DMF (2 mL) according to the general procedure 5.2.32. Si-rhodamine **130** was finally obtained as a dark blue solid after HPLC purification (3.11 mg, 4.03 μmol , 81%).

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, MeOD- d_4 , 300 K):

δ (ppm)=9.13 (t, $J=5.9$ Hz, 1 H, NH), 8.42 (t, $J=1.5$ Hz, 1 H, H_{arom}), 7.83 (t, $J=1.5$ Hz, 1 H, H_{arom}), 7.74 (t, $J=1.6$ Hz, 1 H, H_{arom}), 7.37 (d, $J=2.8$ Hz, 2 H, H_{arom}), 7.22 (d, $J=5.5$ Hz, 2 H, H_{arom}), 7.13 (d, $J=8.2$ Hz, 2 H, H_{arom}), 7.08 (d, $J=9.7$ Hz, 2 H, H_{arom}), 6.81 (dd, $J=9.8$ Hz, 3.2 Hz, 2 H, H_{arom}), 4.51 (s, 2 H, CH_2), 3.35 (s, 12 H, N- CH_3), 2.30 (s, 3 H, CH_3), 0.61 (s, 3 H, Si- CH_3), 0.59 (s, 3 H, Si- CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, MeOD- d_4 , 300 K):

δ (ppm)=167.2, 167.1, 155.7, 149.5, 142.9, 142.8, 141.7, 138.1, 137.6, 137.3, 136.8, 130.2, 128.7, 128.6 (2 C), 122.5, 115.3, 94.8, 44.5, 40.9, 21.1, -1.1, -1.2.

$^{19}\text{F-NMR}$ (564 MHz, MeOD- d_4 , 300 K):

δ (ppm)=-77.1 (CF_3COO^-).

Optical properties:

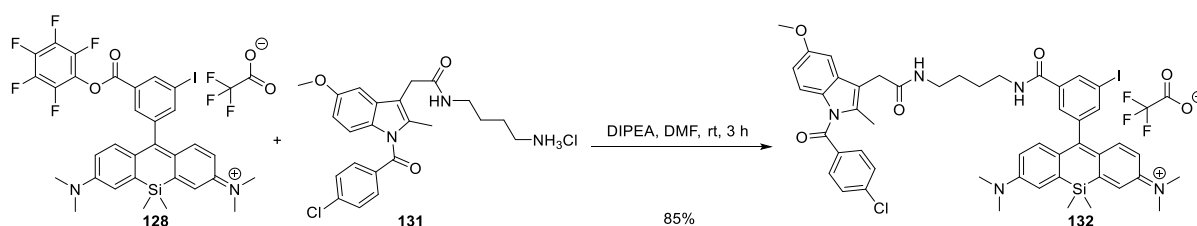
Solvent	$\lambda_{\text{abs, max}}$	λ_{em}	ϵ_{max}	Φ_{F}
PBS ($\text{pH}=7.4$)	652 nm	670 nm	21 600 $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$	0.10

Retention time (system 7, HPLC 45–95)=15.08 min.

HR-ESI-MS in MeCN+0.1% formic acid:

$\text{C}_{34}\text{H}_{37}\text{IN}_3\text{OSi}^+$	calculated m/z	found m/z
$[\text{M}]^+$	658.1746	658.1745

5.2.32.2 Synthesis of Si-rhodamine 132



The Si-rhodamine **132** was synthesized starting from the pentafluorophenyl ester substituted Si-rhodamine **128** (3.00 mg, 3.59 μmol , 1.0 eq.), indomethacin derivate **131** (3.34 mg, 7.19 μmol , 2 eq.) and DIPEA (2.51 μL , 14.4 μmol , 4 eq.) in anhydrous DMF (2 mL) according to the general procedure 5.2.32. Si-rhodamine **132** was finally obtained as a dark blue solid after HPLC purification (3.29 mg, 3.05 μmol , 85%).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , 300 K):

δ (ppm)=8.57 (s, 1 H, NH), 8.47 (s, 1 H, H_{arom}), 7.91 (s, 1 H, H_{arom}), 7.66 (d, $J=8.7$ Hz, 2 H, H_{arom}), 7.61 (s, 1 H, H_{arom}), 7.44 (d, $J=8.2$ Hz, 2 H, H_{arom}), 7.19 (d, $J=9.7$ Hz, 2 H, H_{arom}), 7.04 (s, 3 H, H_{arom}), 6.87 (d, $J=9.1$ Hz, 1 H, H_{arom}), 6.66 (d, $J=8.4$ Hz, 2 H, H_{arom}), 6.61 (dd, $J=9.0$ Hz, 2.6 Hz, 1 H, H_{arom}), 3.78 (s, 3 H, CH_3), 3.64 (s, 2 H, CH_2), 3.52–3.35 (s, 2 H, CH_2), 3.31 (s, 12 H, N- CH_3), 3.31–3.23 (m, 2 H, CH_2), 2.32 (s, 3 H, CH_3), 1.77–1.54 (m, 4 H, CH_2), 0.57 (s, 3 H, Si- CH_3), 0.52 (s, 3 H, Si- CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3 , 300 K):

δ (ppm)=171.4, 168.5, 168.2, 166.4, 159.8, 159.6, 156.3, 154.3, 148.5, 143.2, 140.4, 139.1, 137.8, 137.3, 136.2, 134.3, 131.4, 131.1, 131.0, 129.2, 128.1, 127.7, 120.5, 116.7, 115.0, 114.8, 114.4, 114.0, 112.3, 101.4, 93.9, 56.0, 41.0, 40.0, 39.7, 32.0, 26.3, 26.2, 13.7, -0.3, -1.1.

$^{19}\text{F-NMR}$ (376 MHz, CDCl_3 , 300 K):

δ (ppm)=-75.1 (CF_3COO^-).

Optical properties:

Solvent	$\lambda_{\text{abs, max}}$	λ_{em}	ϵ_{max}	Φ_{F}
PBS ($\text{pH}=7.4$)	659 nm	675 nm	16 900 $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$	0.03

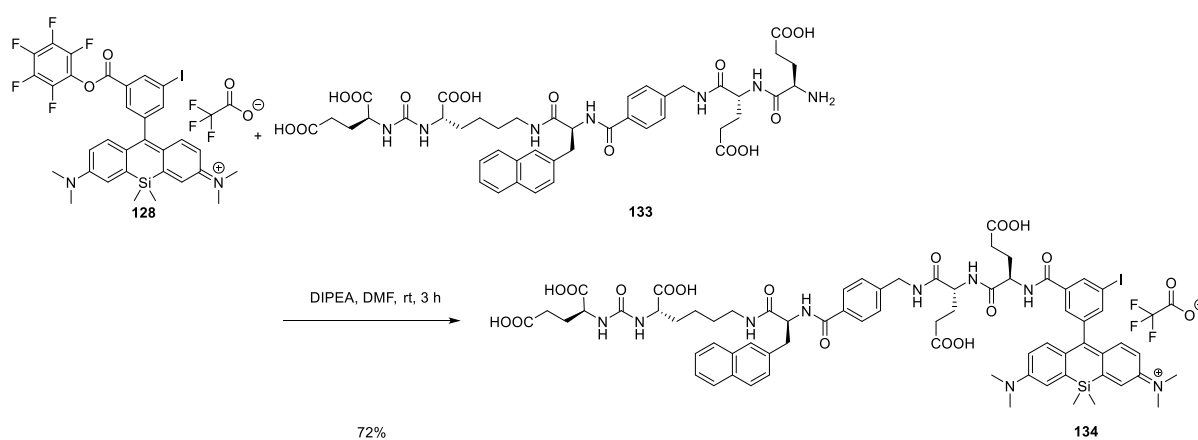
Retention time (system 7, HPLC 45–95)=16.61 min.

HR-ESI-MS in MeCN+0.1% formic acid:

$C_{49}H_{52}ClIN_5O_4Si^+$	calculated m/z	found m/z
$[M]^+$	964.2517	964.2519

HR-MALDI-MS with DCTB as matrix:

$C_{49}H_{52}ClIN_5O_4Si^+$	calculated m/z	found m/z
$[M]^+$	964.2517	964.2532

5.2.32.3 Synthesis of Si-rhodamine 134

The Si-rhodamine **134** was synthesized starting from the pentafluorophenyl ester substituted Si-rhodamine **128** (3.50 mg, 4.19 μ mol, 1.0 eq.), PSMA-1007 precursor **133** (5.71 mg, 6.29 μ mol, 1.5 eq.) and DIPEA (4.38 μ L, 25.2 μ mol, 6 eq.) in anhydrous DMF (2 mL) according to the general procedure 5.2.32. Si-rhodamine **134** was finally obtained as a dark blue solid after HPLC purification (4.70 mg, 3.02 μ mol, 72%).

 1H -NMR (400 MHz, MeOD- d_4 , 300 K):

δ (ppm)=8.48 (t, J =6.0 Hz, 1 H, NH), 8.42 (t, J =1.6 Hz, 1 H, H_{arom}), 8.05 (t, J =5.8 Hz, 1 H, NH), 7.86–7.73 (m, 5 H, H_{arom}), 7.72 (s, 1 H, H_{arom}), 7.69 (s, 1 H, H_{arom}), 7.66 (s, 1 H, H_{arom}), 7.50–7.37 (m, 3 H, H_{arom}), 7.37–7.33 (m, 2 H, H_{arom}), 7.31 (s, 1 H, H_{arom}), 7.29 (s, 1 H, H_{arom}), 7.04 (dd, J =11.6 Hz, 9.6 Hz, 2 H, H_{arom}), 6.75 (td, J =12.3 Hz, 9.6 Hz, 2.9 Hz, 2 H, H_{arom}), 4.57–4.26 (m, 5 H), 4.21–4.13 (m, 1 H), 3.25–3.05 (m, 4 H), 2.51–2.32 (m, 6 H), 2.24–1.94 (m, 6 H), 1.90–1.77 (m, 1 H), 1.75–1.62 (m, 1 H), 1.59–1.46 (m, 1 H), 1.43–1.32 (m, 2 H), 1.32–1.21 (m, 2 H), 0.57 (s, 3 H, Si- CH_3), 0.52 (s, 3 H, Si- CH_3).

Signals of the protons of the amine-group (-N- CH_3) were not identified due to the overlap of the solvent signal at δ (ppm)=3.31 ppm.

5. Experimental Section

¹³C-NMR (151 MHz, MeOD-*d*₄, 300 K):

δ (ppm)=176.7, 176.4 (3 C), 176.0, 174.1, 173.6 (2 C), 169.9, 167.9, 167.0, 160.1, 155.7, 149.5 (2 C), 143.9, 142.8 (2 C), 141.8, 137.9, 136.6, 136.1, 134.9, 134.0, 133.9, 129.1, 129.0, 128.8, 128.7, 128.6, 128.5, 128.4, 127.2, 126.7, 122.5, 115.3, 115.2, 94.7, 57.0, 53.5, 43.7, 41.0, 40.0, 39.3, 32.9, 31.5, 31.2, 31.1, 29.6, 28.9, 28.0, 27.7, 23.6, -1.1, -1.2.

¹⁹F-NMR (376 MHz, MeOD-*d*₄, 300 K):

δ (ppm)=-77.0 (CF₃COO⁻).

Optical properties:

Solvent	$\lambda_{abs, max}$	λ_{em}	ϵ_{max}	Φ_F
PBS (pH=7.4)	659 nm	682 nm	93 000 M ⁻¹ cm ⁻¹	0.12

Retention time (*system 7*, HPLC 45–95)=6.33 min.

HR-ESI-MS in MeCN+0.1% formic acid:

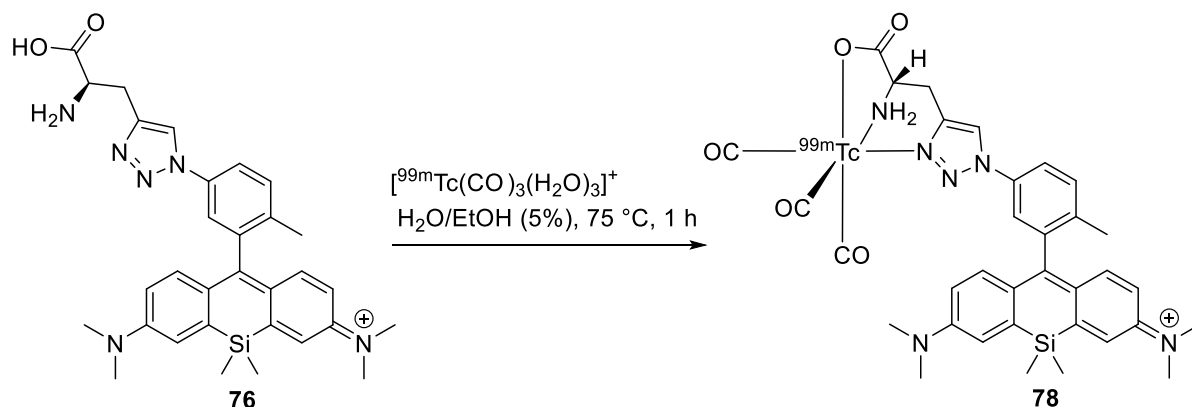
C ₆₉ H ₇₉ IN ₉ O ₁₆ Si ⁺	calculated <i>m/z</i>	found <i>m/z</i>
[M] ⁺	1444.4454	1444.4445

MALDI-MS with α -Cyano-4-hydroxycinnamic acid as matrix:

C ₆₉ H ₇₉ IN ₉ O ₁₆ Si	calculated <i>m/z</i>	found <i>m/z</i>
[M] ⁺	1444.4	1444.4

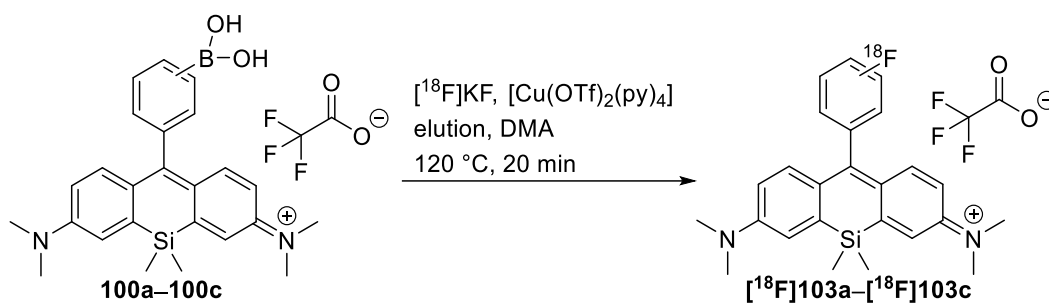
5.3 Radiolabeling procedures for the Si-rhodamines

5.3.1 Synthesis of ^{99m}Tc -Si-rhodamine **78**^[347]



$\text{Na}[\text{}^{99m}\text{TcO}_4]$ was eluted by using a solution of saline (1.0 mL, 0.9%) obtained from a $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ sterile generator from Triad Isotopes (Triad Isotopes – Canton, MA). The elute (ca. 81.4 MBq) was added to a sealed vial containing the lyophilized salts of sodium-tartrate $\text{Na}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6$ (7 mg), sodium tetraborate decahydrate $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$ (7 mg) and sodium boranocarbonate $\text{Na}_2\text{H}_3\text{BCO}_2$ (4 mg).^[250] The sealed and with nitrogen flushed solution was heated for 40 minutes at $100\text{ }^\circ\text{C}$. Afterwards the solution was allowed to cool down to room temperature. The aqueous solution was neutralized with an aqueous solution of hydrochloric acid (1 M) to adjust to $\text{pH}=7$. Subsequently the aqueous technetium-99m tricarbonyl complex **79** solution was added to a solution of Si-rhodamine **76** (86.9 nmol) in deionized water with ethanol (5%) (50 μL). The blue reaction mixture was warmed up to $70\text{ }^\circ\text{C}$ for another hour without stirring. Then the blue solution was allowed to cool to room temperature. A small aliquot was taken and radio-HPLC was performed to verify complete radiochemical conversion (5–95% MeCN/ H_2O , linear gradient in 20 minutes, with constant 0.1% v/v TFA additive, *system* 4). After verification of complete conversion, the purification was performed via radio-HPLC (5–95% MeCN/ H_2O , linear gradient in 20 minutes, with constant 0.1% v/v TFA additive, *system* 4). Finally the collected aqueous solution from radio-HPLC was evaporated under reduced pressure and the residue was redissolved in PBS/EtOH (5%) to afford **78** with a radiochemical yield of 59%.

5.3.2 Copper-mediated radiofluorination (CMRF) screening experiments^[348]



5.3.2.1 CMRF by using WAX cartridges

For the copper-mediated radiofluorination screening experiments a weak anion exchange cartridge (WAX 1cc, 30 mg, oasis[®], waters[™]) was preconditioned with 2-propanol (1 mL). Then the cartridge was flushed with nitrogen for two minutes to dry the cartridge. Afterwards [¹⁸F]fluoride was trapped on the WAX cartridge by passing the aqueous [¹⁸F]fluoride solution (ca. 100 MBq in 0.2 mL) from the female side through the cartridge. Thereafter the cartridge was washed with 2-propanol (1 mL) and dried by a gentle stream of nitrogen for three minutes. Finally the [¹⁸F]fluoride was eluted from the WAX cartridge from the female side using a solution of 4-(dimethylamino)-pyridinium triflate (DMAPH⁺OTf⁻, 6.8 mg, 25 μmol) in DMA or DMF (500 μL; elution efficiency: >80%).^[307]

Then aliquots of the eluate were added to various HPLC vials and the precursor (0.4–1.6 μmol, final concentration: 10–40 mM) and the copper complex tetrakis(pyridine)copper(II) triflate [Cu(OTf)₂(py)₄] (0.4–1.6 μmol; final concentration: 10–40 mM) dissolved in DMA or DMF were added to the HPLC vials containing [¹⁸F]fluoride. For the copper-mediated radiofluorination experiments the total reaction volumes were 40 μL, 50 μL or 160 μL. The vials were sealed and then the blue reaction mixtures were warmed up to 100–160 °C for 20–40 minutes.

Subsequently the reaction mixtures were allowed to cool down to room temperature and the solutions were diluted with a mixture of water/acetonitrile (1:1). The radiochemical conversions (RCCs) were determined by using UHPLC (MeCN/H₂O+0.1% TFA, *system 7*) and radio-TLC (normal phase TLC: DCM/MeOH 85:15). The RCCs were calculated by dividing the integrated peak area under the curve of [¹⁸F]103a by the sum of all peak areas under the curves originating from all the arising ¹⁸F-containing substances in the radio-HPLC chromatograms as demonstrated for one radiofluorination reaction in Figure 2. The corresponding non-radioactive Si-rhodamine 103a was used as reference standard for the radiofluorinated compound [¹⁸F]103a in UHPLC (*system 7*, UHPLC 25–75) and radio-TLC analyses (normal phase TLC: DCM/MeOH 85:15).

5. Experimental Section

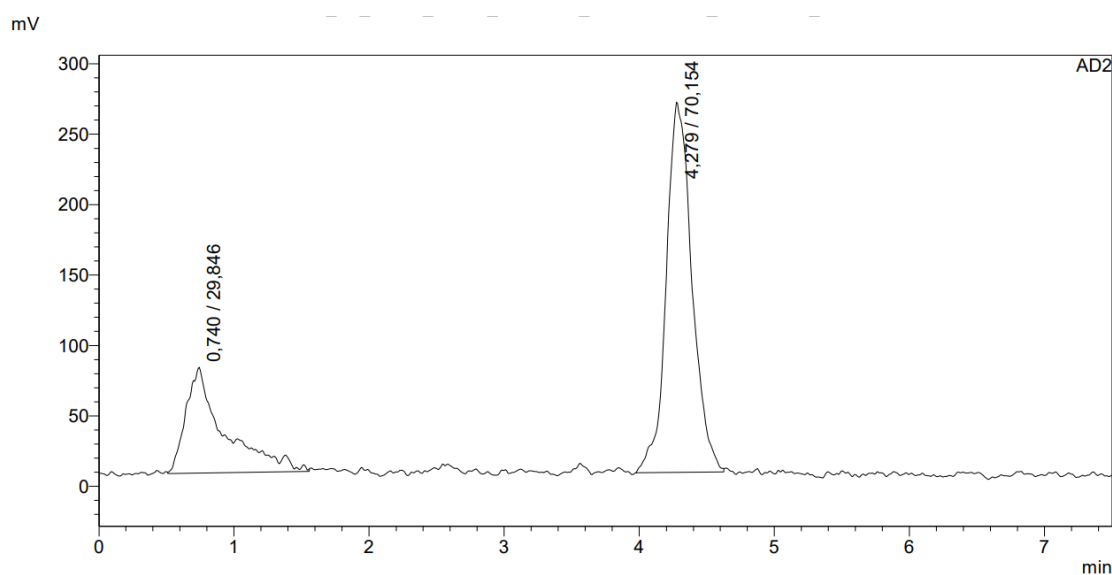


Figure 2: Exemplary determination of the radiochemical conversion by calculating the area under the curves from the obtained peaks via radio-UHPLC. The radio-HPLC chromatogram was recorded from the radiofluorination of the Si-rhodamine **100a** (Table 4, entry: 2). The integrated area under the curve from the free [^{18}F]fluoride and the product signal from [^{18}F]**103a** was used for the determination of RCC by UHPLC (system 7, UHPLC 25–75).

The conditions and results of the CMRF-screening experiments for the different Si-rhodamines as precursors are shown in Table 1.

Table 1: Overview of the radiofluorination screening experiments for the precursors 6a, 6b and 6c after elution with 4-(dimethylamino)-pyridinium triflate over a WAX cartridge by using different reaction time, temperatures, various amounts of copper agent and precursor. The RCCs were determined by using UHPLC (system 7, UHPLC 25–75) or TLC (SiO_2 ; mobile phase: DCM/MeOH 85:15).

Entry	Precursor	Solvent	Time [min]	Temperature [°C]	Total reaction volume [μL]	Precursor: Copper(II) complex [amount]	RCC (HPLC)	RCC (TLC)
1	100a	DMA	20	100	40	1 (0.4 μmol):4 (1.6 μmol)	3%	6%
2		DMA	20	110	40	1 (0.4 μmol):4 (1.6 μmol)	6%	8%
3		DMA	20	120	40	4 (1.6 μmol):1 (0.4 μmol)	0%	0%
4		DMA	20	120	40	1 (0.4 μmol):4 (1.6 μmol)	25%	23%
5		DMF	20	120	40	1 (0.4 μmol):4 (1.6 μmol)	0%	0%
6		DMA	20	120	160	1 (0.4 μmol):4 (1.6 μmol)	22%	21%
7		DMA	20	120	40	1 (0.4 μmol):4 (1.6 μmol)	15%	13%
8		DMA	40	120	40	1 (0.4 μmol):4 (1.6 μmol)	10%	8%
9		DMA	20	140	40	1 (0.4 μmol):4 (1.6 μmol)	10%	6%
10		DMA	40	140	40	1 (0.4 μmol):4 (1.6 μmol)	5%	3%
11		DMA	20	160	40	1 (0.4 μmol):4 (1.6 μmol)	0%	1%
12		DMA	40	160	40	1 (0.4 μmol):4 (1.6 μmol)	0%	1%
13	100b	DMA	20	120	40	1 (0.4 μmol):4 (1.6 μmol)	0%	-
14		DMA	20	120	40	1 (0.4 μmol):4 (1.6 μmol)	0%	-
15	100c	DMA	20	120	40	1 (0.4 μmol):4 (1.6 μmol)	0%	-
16		DMA	20	120	40	1 (0.4 μmol):4 (1.6 μmol)	0%	-

5.3.2.2 CMRF by using QMA cartridges

For alternative radiofluorination experiments quaternary methyl ammonium (QMA light, 46 mg, waters™) were used. According to this the cartridge was preconditioned with NaHCO₃ (1 M, 10 mL) and water (10 mL). [¹⁸F]Fluoride (ca. 100 MBq in 0.2 mL) was trapped on QMA light cartridges by passing the aqueous [¹⁸F]fluoride solution from the female side through the cartridge. The [¹⁸F]fluoride was eluted from the QMA cartridge with a solution of potassium triflate (KOTf, 5 mg, 26.6 μmol) and potassium carbonate (K₂CO₃, 50.0 μg, 362 nmol) dissolved in acetonitrile (1 mL) and water (0.5 mL).^[287-288] The elution efficiency was more than >88% (*n*=4). Afterwards aliquots (60 μL) of the [¹⁸F]fluoride solution were added to HPLC vials. The vials were sealed and were dried at 130 °C for 3 min under a gentle helium flow. Then the HPLC vials were allowed to cool down to room temperature. In the next step a premixed solution (premix time of five minutes) of precursor (10 μL, 0.4 μmol, final concentration: 10 mM), copper agent [Cu(OTf)₂(py)₄] or [Cu(OTf)₂(impy)₄] (10 μL, 1.6 μmol; final concentration: 40 mM) and DMA or 1,3-dimethyl-2-imidazolidinone (DMI) (20 μL) were added to the HPLC vial containing [¹⁸F]fluoride.^[308]

In an alternative elution strategy, the elution was performed with tetraethylammonium bicarbonate (2.7 mg, 14.1 μmol) in *n*-butanol (400 μL). Then aliquots (20 μL) were added to HPLC vials as well.^[289]

The premixed solutions (premix time five minutes) of precursor (10 μL, 0.4 μmol, final concentration: 10 mM) and copper agent [Cu(OTf)₂(py)₄] (10 μL, 1.6 μmol; final concentration: 40 mM) in DMA were added to the HPLC vial containing [¹⁸F]fluoride and finally pure DMA (20 μL) was added.

Alternatively, the elution from the cartridge was performed with tetraethylammonium bicarbonate (0.8 mg, 4.18 μmol) in methanol (800 μL).^[289] Then various aliquots from the elution solution (45 μL) were added to HPLC vials. Then the methanol was removed by a gentle helium flow at 70 °C. The premixed solutions (premix time five minutes) of the precursors and copper complex [Cu(OTf)₂(py)₄] dissolved in DMA was added to the HPLC vial containing [¹⁸F]fluoride and anhydrous DMA (total volume: 45 μL).

The HPLC vials were sealed and the dark blue reaction mixtures were heated up to 120 °C for 20 minutes.

Subsequently the reaction mixture was allowed to cool down to room temperature and the solution was five-fold diluted with mixture of water and acetonitrile (1:1). The radiochemical conversions (RCCs) were determined by using UHPLC (*system 7*, UHPLC 25–75) and radio-TLC (normal phase TLC: DCM/MeOH 85:15). The RCCs were calculated as described above. The respective Si-rhodamines **103a** or **103b** were used as non-radioactive reference compounds for the radiofluorinated compound [¹⁸F]**103a** and [¹⁸F]**103b** in UHPLC (*system 7*, UHPLC 25–75) and radio-TLC analyses (normal phase TLC: DCM/MeOH 85:15). The

5. Experimental Section

following tables show the conditions and the radiochemical conversions calculated from radio-HPLC and radio-TLC.

Table 2: Elution with tetraethylammonium bicarbonate in *n*-butanol.

Entry	Precursor	Solvent	Time [min]	Temperature [°C]	Total reaction volume [μL]	Precursor: Copper(II) complex [amount]	RCC (HPLC)	RCC (TLC)
1	100a	DMA	20	120	45	1 (0.4 μmol):1 (0.4 μmol)	-	12%
2		DMA	20	120	45	1 (0.4 μmol):4 (1.6 μmol)	16%	12%
3		DMA	20	120	45	1 (0.4 μmol):5 (2.0 μmol)	19%	16%
4		DMA	20	120	45	4 (1.6 μmol):1 (0.4 μmol)	-	4%
5		DMA	20	120	30	1 (0.4 μmol):4 (1.6 μmol)	-	15%
6	100b	DMA	20	120	30	1 (0.4 μmol):4 (1.6 μmol)	-	0%
7	100c	DMA	20	120	30	1 (0.4 μmol):4 (1.6 μmol)	-	0%

Table 3: Elution with tetraethylammonium bicarbonate in methanol followed by evaporation of the solvent.

Entry	Precursor	Solvent	Time [min]	Temperature [°C]	Total reaction volume [μL]	Precursor: Copper(II) complex [amount]	RCC (HPLC)	RCC (TLC)
1	100a	DMA	20	120	45	1 (0.4 μmol):1 (0.4 μmol):	-	0%
2		DMA	20	120	45	1 (0.4 μmol):4 (1.6 μmol)	6%	8%
3		DMA	20	120	45	1 (0.4 μmol):5 (2.0 μmol)	10%	10%
4		DMA	20	120	45	4 (1.6 μmol):1 (0.4 μmol)	-	0%

Table 4: Elution with KOTf/K₂CO₃ followed by azeotropic drying.

Entry	Precursor	Solvent	Time [min]	Temperature [°C]	Total reaction volume [μL]	Precursor: Copper(II) complex [amount]	RCC (HPLC)	RCC (TLC)
1	100a	DMA	20	120	40	1 (0.4 μmol):4 (1.6 μmol)	35%	-
2		DMI	20	120	40	1 (0.4 μmol):4 (1.6 μmol)	70%	70%
3	100b	DMI	20	120	40	1 (0.4 μmol):4 (1.6 μmol)	48%	-
4		DMA	20	120	40	1 (0.4 μmol):4 (1.6 μmol)	0%	-
5	100c	DMA	20	120	40	1 (0.4 μmol):4 (1.6 μmol)	0%	-
6		DMA	20	120	40	1 (0.4 μmol):4 (1.6 μmol)	0%	-
7		DMI	20	120	40	1 (0.4 μmol):4 (1.6 μmol)	0%	-

Table 5: Elution with KOTf/K₂CO₃ followed by azeotropic drying and [Cu(OTf)₂(imp)₄] as copper source.

Entry	Precursor	Solvent	Time [min]	Temperature [°C]	Total reaction volume [μL]	Precursor: Copper(II) complex [amount]	RCC (HPLC)	RCC (TLC)
1	100a	DMA	20	120	40	1 (0.4 μmol):4 (1.6 μmol)	18%	23%
2		DMI	20	120	40	1 (0.4 μmol):4 (1.6 μmol)	14%	24%
3	100b	DMI	20	120	40	1 (0.4 μmol):4 (1.6 μmol)	0%	-

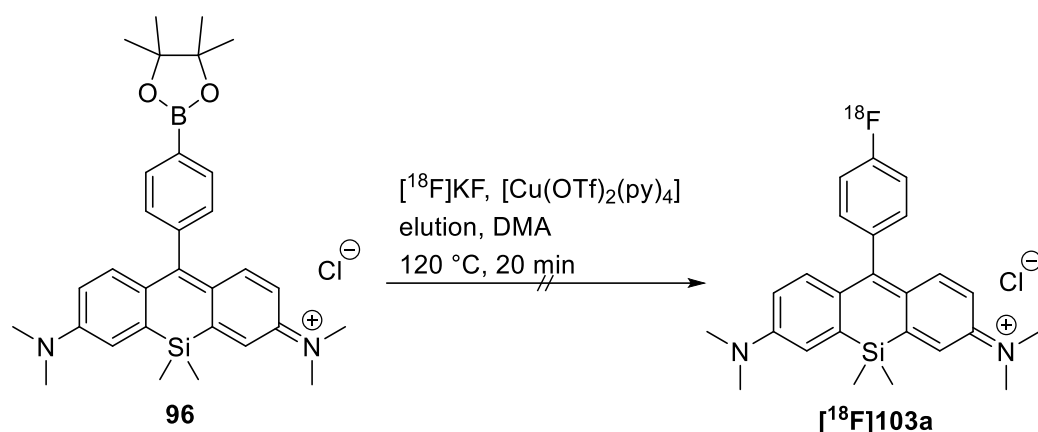


Table 6: Elution with KOTf/K₂CO₃ followed by azeotropic drying.

Entry	Precursor	Solvent	Time [min]	Temperature [°C]	Total reaction volume [μL]	Precursor: Copper(II) complex [amount]	RCC (HPLC)	RCC (TLC)
1	96	DMA	20	120	40	1 (0.4 μmol):4 (1.6 μmol)	0%	-
2	96	DMI	20	120	40	1 (0.4 μmol):4 (1.6 μmol)	0%	-

5.3.2.3 Determination of the isolated radiochemical yield

Elution with 4-(dimethylamino)-pyridinium triflate:

To determine the radiochemical yield a weak anion exchange cartridge (WAX 1cc, 30 mg, oasis[®], waters[™]) was preconditioned with 2-propanol (1 mL). After the preconditioning step the cartridge was dried by flushing nitrogen for two minutes. Then the [¹⁸F]fluoride (ca. 400 MBq in 0.4 mL) was trapped on the WAX cartridge by passing the aqueous [¹⁸F]fluoride solution from the female side through the cartridge. Afterwards the cartridge was washed with 2-propanol (1 mL) and was dried by a gentle stream of nitrogen for three minutes. The [¹⁸F]fluoride was eluted from the WAX cartridge from the female side using a solution of 4-(dimethylamino)-pyridinium triflate (DMAPH⁺OTf⁻, 6.8 mg, 25 μmol) in DMA (500 μL; elution efficiency: >80%). Subsequently an aliquot (20 μL) of the eluate containing [¹⁸F]fluoride was added to the HPLC vial. The precursor (0.4 μmol, final concentration: 10 mM, 10 μL) and the copper complex [Cu(OTf)₂(py)₄] (1.6 μmol; final concentration: 40 mM, 10 μL) dissolved in DMA were added to the HPLC vial containing [¹⁸F]fluoride. The total reaction volume for the radiofluorination step was 40 μL. The HPLC vial was sealed and the blue solution was heated then to 120 °C for 20 minutes.

Then the reaction mixture was allowed to cool down to room temperature and the solution was diluted with a mixture of water and acetonitrile (1:1; 2 mL). The dark blue solution was directly injected into the semi-preparative HPLC for purification. The purification was performed with an isocratic method (MeCN/H₂O+0.1% TFA 55:45, system 5; [¹⁸F]103a (R_f=38.0–40.0 min)). Afterwards the product containing fraction of [¹⁸F]103a was collected, diluted with water and passed through a Chromafix[®] C₁₈ ec (s) cartridge (270 mg, previously conditioned with ethanol (10 mL) and deionized water (10 mL)). Subsequently the cartridge was washed with deionized

water (ca. 8 mL). Then a solution of acetonitrile with TFA (+0.1%) as additive (2 mL) was used for elution of [^{18}F]103a from cartridge. The solvent was evaporated at 80 °C to obtain [^{18}F]103a.

Table 7: Elution with 4-(dimethylamino)-pyridinium triflate (DMAPH⁺OTf⁻) in DMA.

Entry	Precursor	Solvent	Time [min]	Temperature [°C]	Total reaction volume [μL]	Precursor: Copper(II) complex [amount]	RCY±SD (number of experiments)
1	103a	DMA	20	120	40	1 (0.4 μmol):4 (1.6 μmol)	14.0±0.3% (n=3)

Elution with KOTf/K₂CO₃ and azeotropic drying:

To determine the radiochemical yield a quaternary methyl ammonium (QMA light, 46 mg, watersTM) cartridge was preconditioned with an aqueous solution of sodium bicarbonate (1 M, 10 mL) and with water (10 mL). Then [^{18}F]fluoride (ca. 500 MBq in 0.5 mL) was trapped on a QMA light cartridge by passing the aqueous [^{18}F]fluoride solution from the female side through the cartridge. The [^{18}F]fluoride was eluted from the QMA cartridge with a solution of potassium triflate (KOTf, 5 mg, 26.6 μmol) and potassium carbonate (K₂CO₃, 50 μg, 362 nmol) in acetonitrile (1 mL) and deionized water (0.5 mL). The elution efficiency was over 88%. Afterwards an aqueous aliquot of [^{18}F]fluoride (180 μL; 1.20 GBq) was taken and was added to a HPLC vial. The aqueous solution was dried in sealed vials at 130 °C under a helium flow for three minutes. The HPLC vial was allowed to cool down to room temperature. Then a premixed solution (premix time five minutes) of precursor (10 μL, 0.4 μmol, final concentration: 10 mM), copper complex [Cu(OTf)₂(py)₄] or [Cu(OTf)₂(impy)₄] (10 μL, 1.6 μmol; final concentration: 40 mM) and DMA or DMI (20 μL) was added to the HPLC vial containing [^{18}F]fluoride.

Afterwards the reaction mixture was allowed to cool down to room temperature and the solution was diluted with a mixture of water and acetonitrile (1:1, 2 mL). The dark blue reaction mixture was directly injected into the semi-preparative HPLC. The purification was performed with an isocratic method (MeCN/H₂O+0.1% TFA 55:45, system 5; [^{18}F]103a (R_f =38.0–40.0 min or [^{18}F]103b (R_f =39.0–41.5 min)). The collected fractions of [^{18}F]103a or [^{18}F]103b were diluted with water and passed through a Chromafix[®] C₁₈ ec (s) cartridge (270 mg, conditioned with ethanol (10 mL) and water (10 mL)). The cartridge was washed with deionized water (ca. 8 mL). Then a solution of acetonitrile with TFA (+0.1%) as additive (2 mL) was used for elution of [^{18}F]103a or [^{18}F]103b from cartridge. The solvent was evaporated for [^{18}F]103a at 80 °C and for [^{18}F]103b at 55 °C under reduced pressure and a gentle flow of helium to complete dryness. For *in vitro* stability studies, [^{18}F]103a or [^{18}F]103b were dissolved in anhydrous ethanol.

Table 8: Elution with KOTf/K₂CO₃ and azeotropic drying.

Entry	Precursor	Solvent	Time [min]	Temperature [°C]	Total reaction volume [μL]	Precursor: Copper(II) complex [amount]	RCY±SD (number of experiments)
1	103a	DMA	20	120	40	1 (0.4 μmol):4 (1.6 μmol)	25±4% (n=3)
2		DMI	20	120	40	1 (0.4 μmol):4 (1.6 μmol)	34±1% (n=2)
3		DMI	20	120	200	1 (0.4 μmol):4 (1.6 μmol)	54±1% (n=2)
4	103b	DMI	20	120	120	1 (0.4 μmol):4 (1.6 μmol)	33% (n=1)

The proof of identity of [¹⁸F]103a or [¹⁸F]103b was carried out by comparing both HPLC traces from the radioactive and the non-radioactive reference compounds 103a or 103b. In Figure 3 to Figure 6 the corresponding HPLC chromatograms are shown.

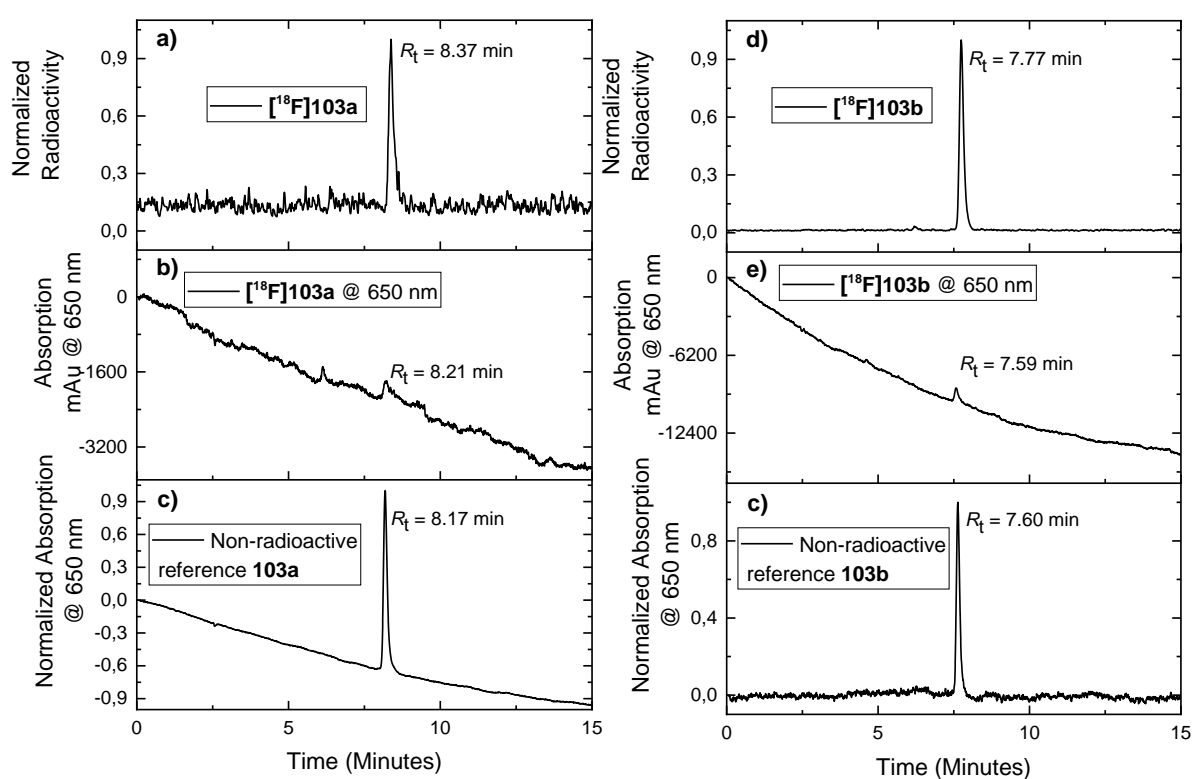


Figure 3: Proof of identity of Si-rhodamine [¹⁸F]103a and [¹⁸F]103b via HPLC analysis by applying an isocratic HPLC method (*system 7*, HPLC 55 iso). a) Normalized HPLC chromatogram of the radiofluorinated Si-rhodamine [¹⁸F]103a ([γ-detection; intensity (cps)], retention time: 8.37 min). b) HPLC chromatogram of the corresponding radioactive Si-rhodamine [¹⁸F]103a NIR channel ([650 nm], retention time: 8.21 min). c) Normalized HPLC chromatogram of the non-radioactive reference Si-rhodamine 103a ([NIR, 650 nm], retention time: 8.17 min). d) Normalized HPLC chromatogram of the radiofluorinated Si-rhodamine [¹⁸F]103b ([γ-detection; intensity (cps)], retention time: 7.77 min). e) HPLC chromatogram of the corresponding radioactive Si-rhodamine [¹⁸F]103b in NIR channel ([650 nm], retention time: 7.59 min). f) Normalized HPLC chromatogram of the non-radioactive reference Si-rhodamine 103b ([NIR, 650 nm], retention time: 7.60 min).

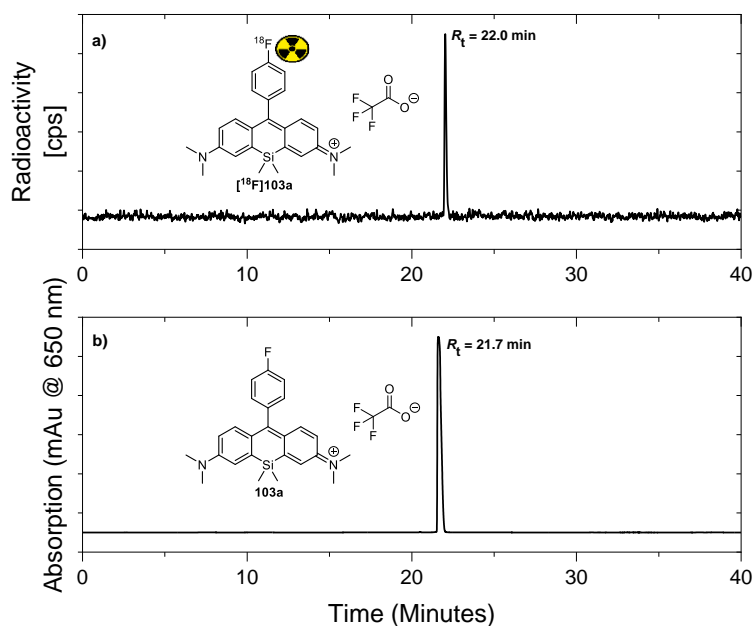


Figure 4: Proof of identity of Si-rhodamine $[^{18}\text{F}]103\text{a}$ via HPLC analysis by applying an isocratic HPLC method (HPLC method: *system 7*, 25–75). a) HPLC chromatogram of the radiofluorinated Si-rhodamine $[^{18}\text{F}]103\text{a}$ ($[\gamma]$ -detection; intensity (cps)), retention time: 22.0 min). b) HPLC chromatogram of the non-radioactive reference compound Si-rhodamine 103a ([NIR, absorption at 650 nm], retention time: 21.7 min).

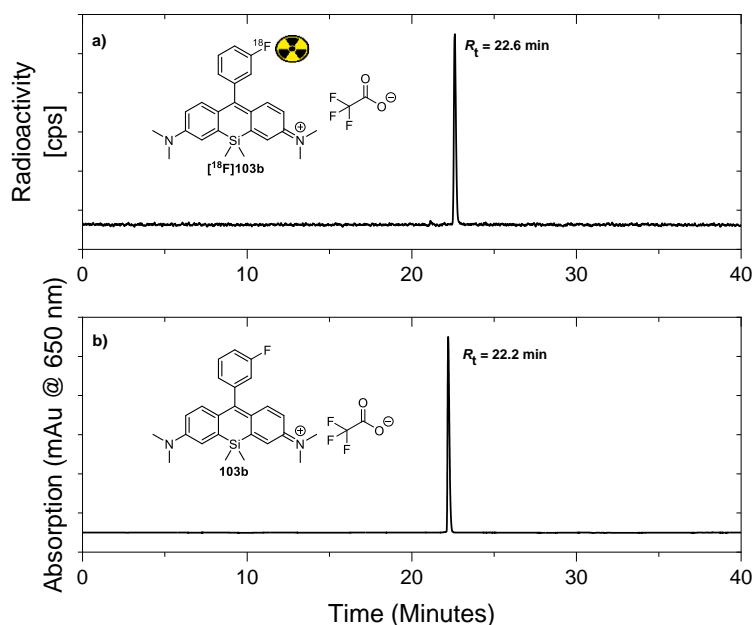
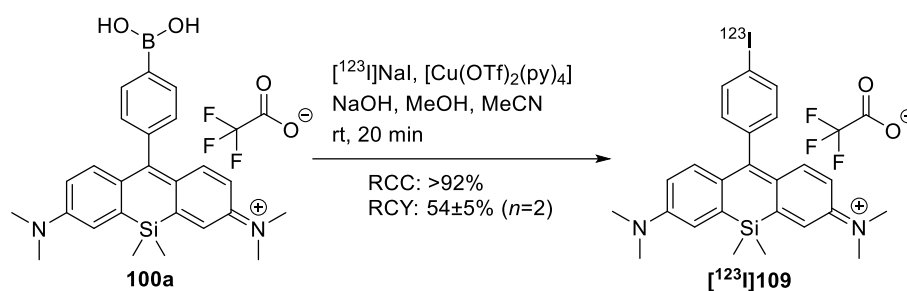


Figure 5: Confirmation of identity of Si-rhodamine $[^{18}\text{F}]103\text{b}$ via HPLC analysis by applying an isocratic HPLC method (HPLC method: *system 7*, 25–75). a) HPLC chromatogram of the radiofluorinated Si-rhodamine $[^{18}\text{F}]103\text{a}$ ($[\gamma]$ -detection; intensity (cps)), retention time: 22.6 min). b) HPLC chromatogram of the non-radioactive reference compound Si-rhodamine 103b ([NIR, absorption at 650 nm], retention time: 22.2 min).

5.3.3 Copper-mediated radioiodination (CMRI) of precursor **100a**^[348]

CAUTION: the radiolabeling with iodine-123 was performed in specific radionuclide hoods for iodine-123 with elevated exhausting filters to prevent iodine-123 spreading and contamination.

The copper-mediated radioiodination (CMRI) was performed according to previously reported methods.^[314, 316, 318] Therefore a solution of precursor **100a** (130 μg , 240 nmol, final concentration: 0.8 mM) dissolved in anhydrous acetonitrile (60 μL) and the copper complex $[\text{Cu}(\text{OTf})_2(\text{py})_4]$ (814 μg , 1.20 μmol ; final concentration: 4 mM) dissolved in methanol (240 μL) were mixed. Within two minutes the blue solution was added to an aqueous solution of $[^{123}\text{I}]\text{iodide}$ (180 MBq $\text{Na}[^{123}\text{I}]\text{I}$ in sodium hydroxide (0.02 M, 10 μL)). After addition the resulting blue reaction mixture was kept for 20 minutes at room temperature without stirring. Afterwards the solution was diluted with a mixture of water and acetonitrile (1:1, 1.60 mL). The blue solution was directly injected into the semi-preparative HPLC for purification. The purification was performed with a linear gradient method (25–75% $\text{MeCN}/\text{H}_2\text{O}$ with constant 0.1% v/v TFA as additive, system 6, $R_f=30\text{--}31 \text{ min}$). The collected fraction containing **[¹²³I]109** was diluted with deionized water (20 mL) and was trapped on a Chromafix[®] C₁₈ ec (s) cartridge (270 mg, previously conditioned with ethanol (10 mL) and water (10 mL)). Subsequently the cartridge was washed with deionized water (ca. 5 mL). Then a solution of acetonitrile with TFA (+0.1%) as additive (2 mL) was used for elution of **[¹²³I]109** from cartridge. The solvent was evaporated under reduced pressure at 80 °C with an additional flow of nitrogen to complete dryness. The isolated radioiodinated Si-rhodamine **[¹²³I]109** (with radiochemical purity of 96%) was redissolved in ethanol to determine the molar activity and the partition coefficient $\log D$ at $\text{pH}=7$.^[309, 351] The determined radiochemical purity was between 80% and 96% with a radiochemical yield of $54 \pm 5\% (n=2)$.

Remark: the radiochemical purity after HPLC purification and SPE was over 99%. However, after evaporation of the solution in acetonitrile containing 0.1% TFA as additive at different temperatures (50 °C and 70 °C) showed a decrease in radiochemical purity indicating instability during the evaporation step at higher temperatures. The thermal instability was noticed in HPLC measurements (Figure 6 to Figure 9).

Analytical radio-HPLC analysis of [¹²³I]109 after semi-preparative HPLC purification (system 7, HPLC 25–75) with RCP>99%:

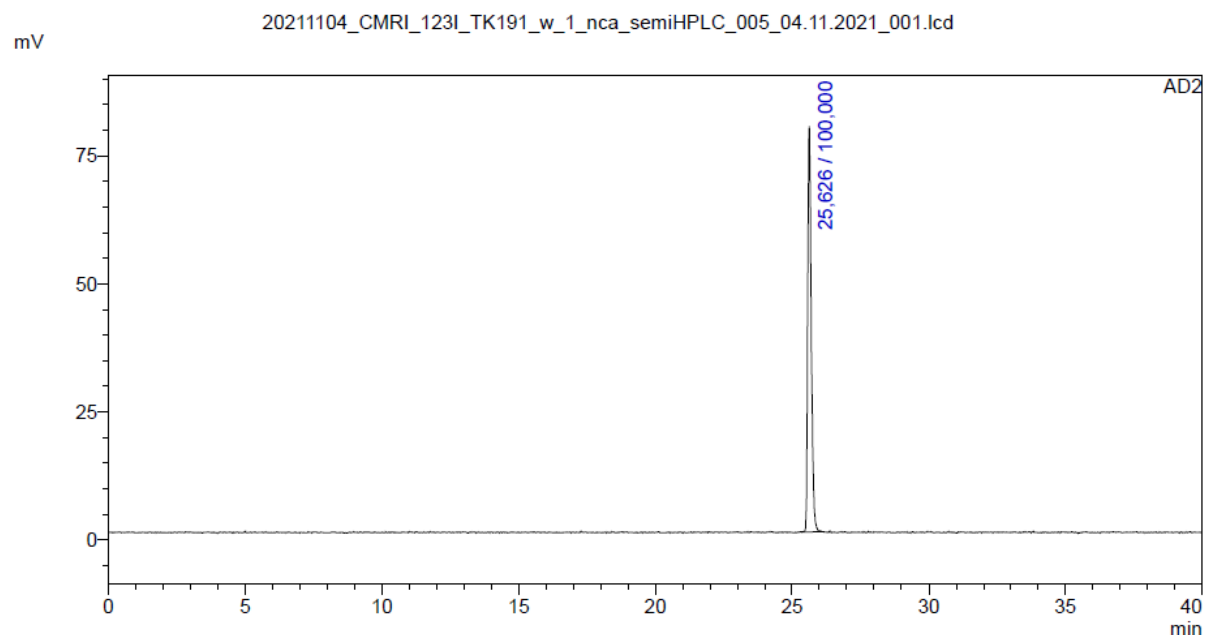


Figure 6: Analytical radio-HPLC chromatogram of [¹²³I]109 ([γ-detection], $R_t=25.6$ min) after semi-preparative HPLC purification with a radiochemical purity over 99% (system 7, HPLC 25–75).

Analytical radio-HPLC of [¹²³I]109 analysis after SPE (system 7, HPLC 25–75) with RCP>99%:

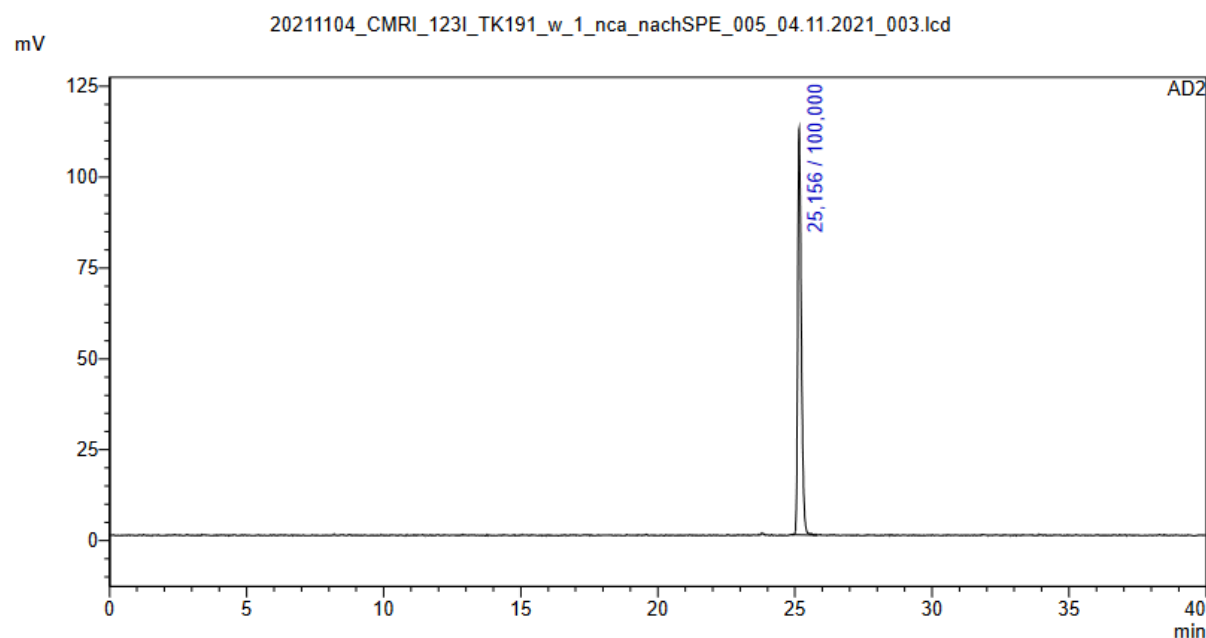


Figure 7: Analytical radio-HPLC chromatogram of [¹²³I]109 ([γ-detection], $R_t=25.2$ min) after SPE with a radiochemical purity over 99% (system 7, HPLC 25–75).

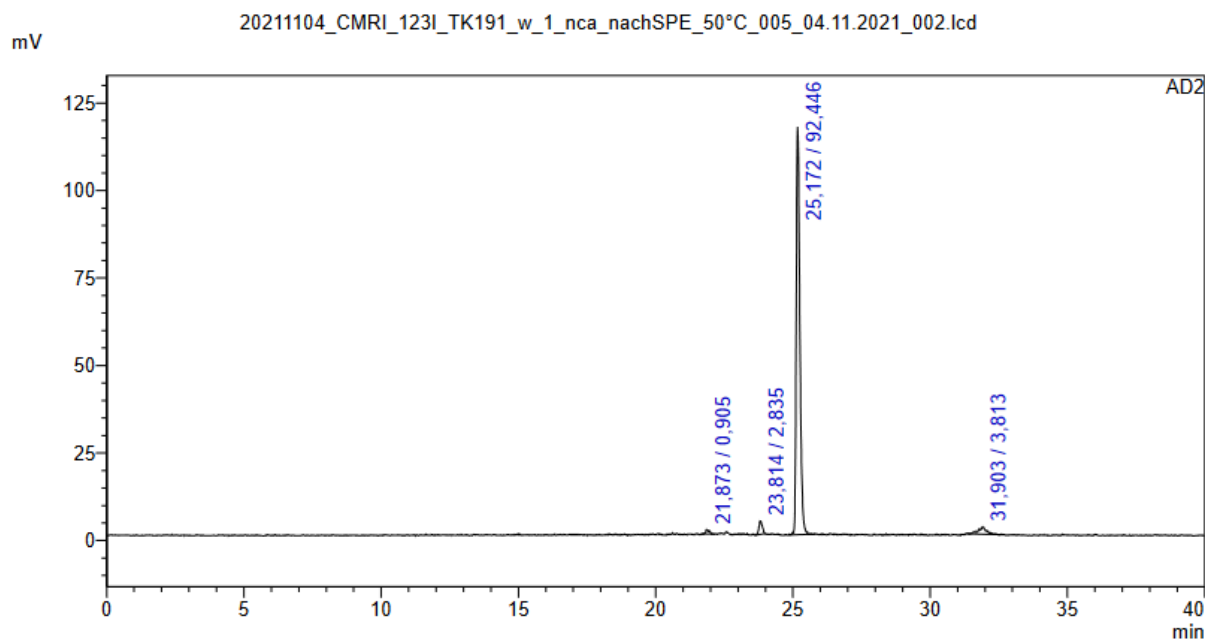
Analytical radio-HPLC analysis of [¹²³I]109 after evaporation at 50 °C (system 7, HPLC 25–75) with RCP of 92%:

Figure 8: Analytical radio-HPLC chromatogram of [¹²³I]109 ([γ -detection], $R_t=25.2$ min) after an evaporation step at 50 °C with a radiochemical purity of 92% and minor byproducts (system 7, HPLC 25–75).

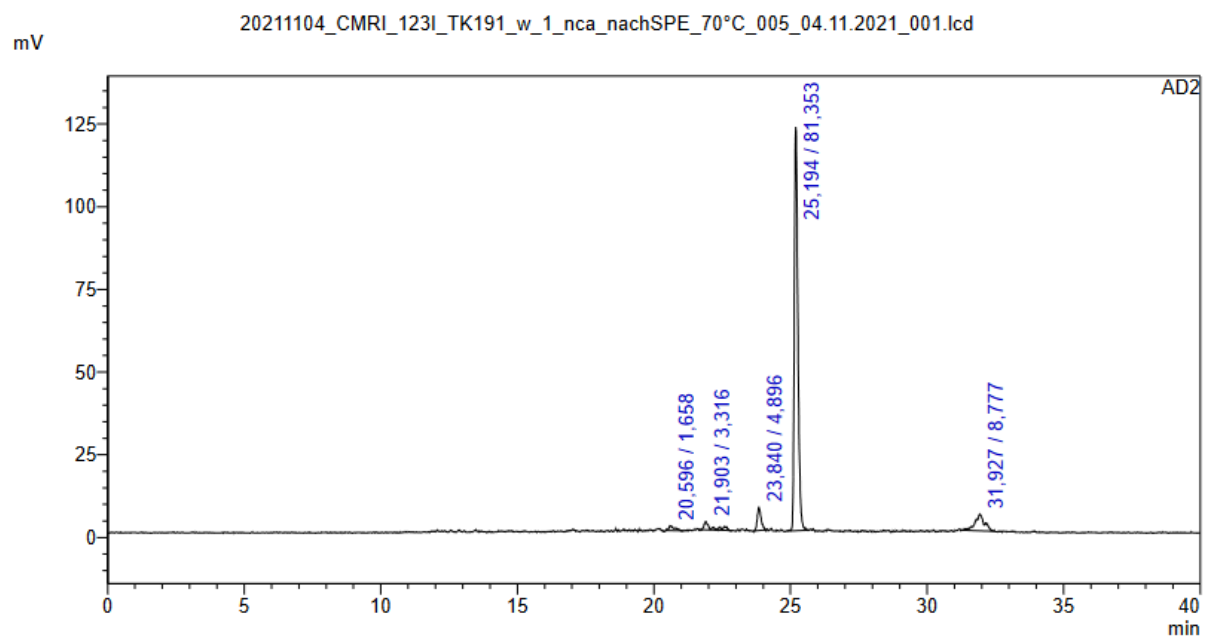
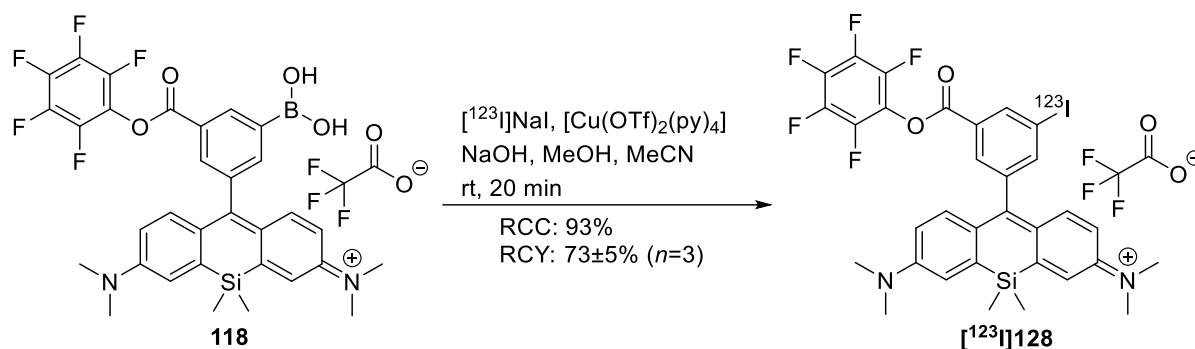
Analytical radio-HPLC analysis of [¹²³I]109 after evaporation at 70 °C (system 7, HPLC 25–75) with RCP of 81%:

Figure 9: Analytical radio-HPLC chromatogram of [¹²³I]109 ([γ -detection], $R_t=25.2$ min) after an evaporation step at 70 °C with a radiochemical purity of 81% and minor byproducts (system 7, HPLC 25–75).

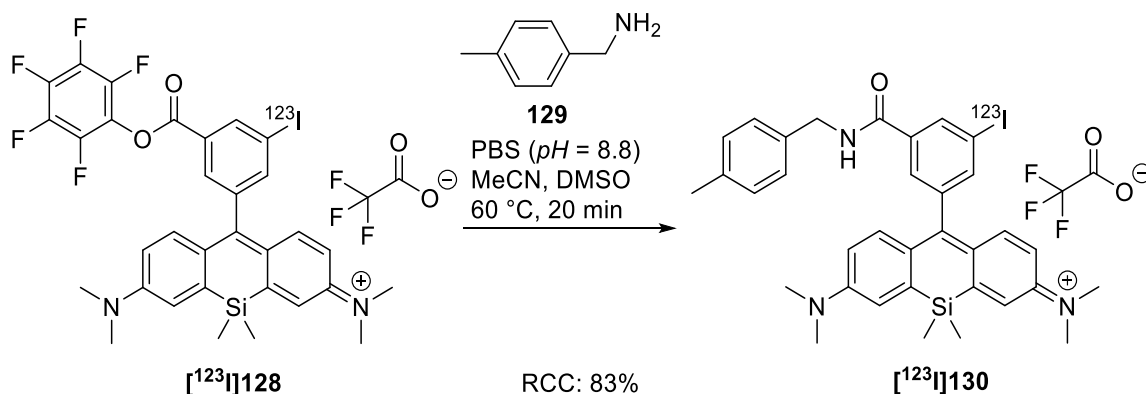
5.3.4 Copper-mediated radioiodination (CMRI) of precursor **118** for conjugation with primary amines



CAUTION: the radiolabeling with iodine-123 was performed in specific radionuclide hoods for iodine-123 with elevated exhausting filters to prevent iodine-123 spreading and contamination. The copper-mediated radioiodination (CMRI) was performed according to previously reported methods.^[314, 316, 318] A solution of precursor **118** (301 μg , 400 nmol, final concentration: 0.8 mM) was dissolved in anhydrous acetonitrile (100 μL) and the copper complex $[\text{Cu}(\text{OTf})_2(\text{py})_4]$ (1.36 mg, 2.00 μmol ; final concentration: 4 mM) was dissolved in anhydrous methanol (400 μL). Both solutions were mixed with each other (total volume: 500 μL) and were added within one minute to an aqueous solution of $[^{123}\text{I}]\text{iodide}$ (115 MBq $\text{Na}[^{123}\text{I}]\text{I}$ in sodium hydroxide (0.02 M, 10 μL)). After addition the resulting blue reaction mixture was kept without stirring for 20 minutes at room temperature. Afterwards the solution was diluted with deionized water (3 mL) and was trapped on a Chromafix[®] C₁₈ ec (s) cartridge (270 mg, previously conditioned with ethanol (10 mL) and water (10 mL)). The cartridge was washed with deionized water (ca. 5 mL) and was flushed by air (5 mL) to dry the cartridge. Then a solution of acetonitrile with TFA (+0.1%) as additive (2 mL) was used for elution of $[^{123}\text{I}]\mathbf{128}$ from cartridge. The solvent was evaporated under reduced pressure at 70 °C with an additional flow of nitrogen to complete dryness. The residue was dissolved in anhydrous acetonitrile for further conjugation reactions. The radiochemical conversion was over 93% and an average radiochemical yield of $73\pm 5\% (n=3)$ was obtained.

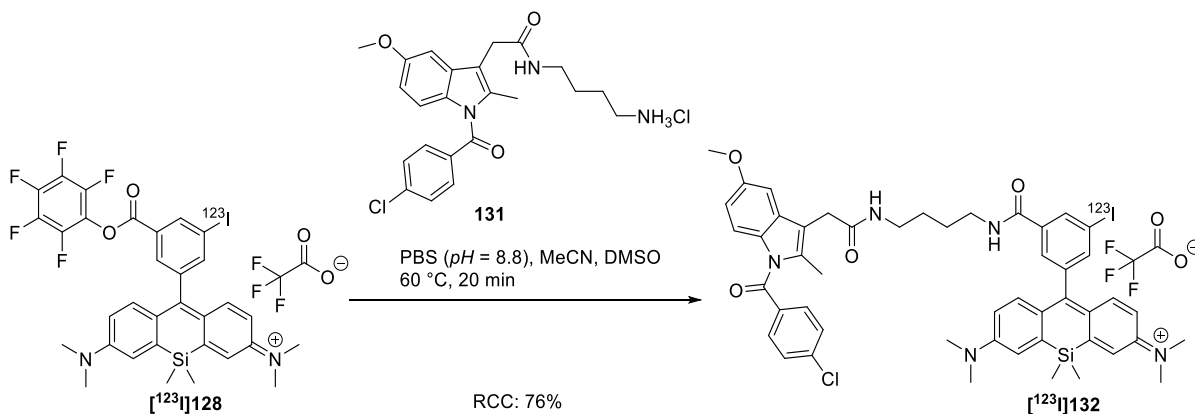
Screening experiments with PFP-ester [¹²³I]128 with primary amines:

- Conjugation with 4-methylbenzylamine (**129**)



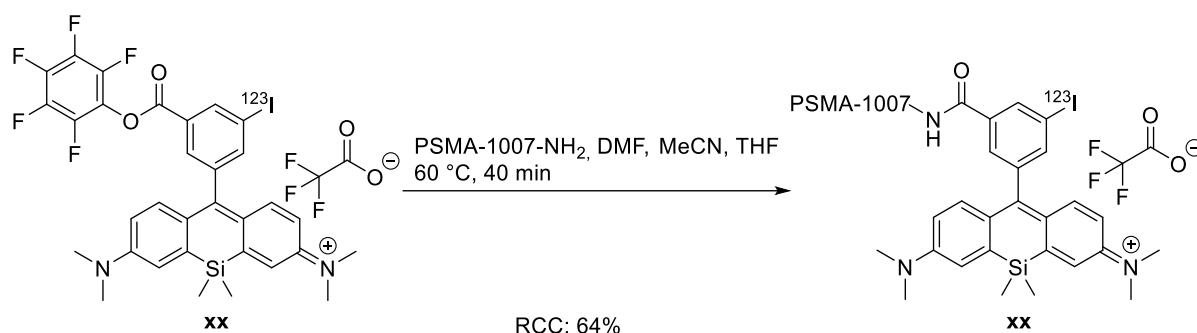
The radiolabeled PFP-ester [¹²³I]128 which was dissolved in anhydrous acetonitrile (3 μ L with ca. 2.4 MBq, ca. 24.0 μ mol) was added to a solution of PBS ($pH=8.8$; 50 μ L), the primary amine 4-methylbenzylamine (**129**) (13.3 μ g, 110 μ mol, 4.58 eq.) dissolved in anhydrous DMSO (50 μ L) and a mixture of deionized water and acetonitrile (1:1; 197 μ L). The reaction mixture was warmed up to 60 °C and was kept at this temperature for 20 minutes. Finally the reaction mixture was subjected to analytical radio-HPLC (*system 7*, HPLC 45–95) which revealed a radiochemical conversion of 83% ($n=1$).

- Conjugation with indomethacin derivative **131**



The radiolabeled PFP-ester [¹²³I]128 which was dissolved in anhydrous acetonitrile (3 μ L with ca. 2.4 MBq, ca. 24.0 μ mol) was added to a solution of PBS ($pH=8.8$; 50 μ L), the indomethacin derivative **131** (51.1 μ g, 110 μ mol, 4.58 eq.) as primary amine dissolved in anhydrous DMSO (50 μ L) and a mixture of deionized water and acetonitrile (1:1; 197 μ L). The reaction mixture was warmed up to 60 °C and was kept at this temperature for 20 minutes. Finally the reaction mixture was subjected to analytical radio-HPLC (*system 7*, HPLC 45–95) which revealed a radiochemical conversion of 76% ($n=1$).

- Conjugation with PSMA-1007 precursor **134**



The radiiodinated PFP-ester [¹²³I]**128** which was dissolved in anhydrous acetonitrile (3 μ L with ca. 6.8 MBq, ca. 9.60 μ mol) was added to a solution of anhydrous THF (192 μ L), the PSMA-1007 precursor **133** (13.3 μ g, 110 μ mol, 11.5 eq.) as primary amine dissolved in anhydrous DMF (50 μ L) and DIPEA (81.5 μ g, 634 μ mol, 66 eq.). The reaction mixture was warmed up to 60 °C and was kept at this temperature for 40 minutes. Finally the reaction mixture was subjected to analytical radio-HPLC (*system 7*, HPLC 45–95) and a radiochemical conversion of 64% was observed ($n=1$). In an initial purification step [¹²³I]**134** was purified by radio-HPLC (45–95% MeCN/H₂O, linear gradient in 33 minutes, with constant 0.1% v/v TFA additive, *system 6*, $R_f=26$ –28 min).

5.3.5 Determination of the molar activity

For the determination of the molar activity from the radiolabeled Si-rhodamines [¹⁸F]**103a**, [¹⁸F]**103b** and [¹²³I]**109** various calibration curves of the corresponding non-radioactive reference compounds **103a**, **103b** or **109** were recorded by injection of different amounts of the reference compounds between 10–5000 femtomole on column into the HPLC. The area under the curve resulting from the fluorescence signals of the HPLC (excitation: $\lambda_{exc}=600$ nm; emission: $\lambda_{em}=640$ nm) was correlated to the injected amount of substance and fitted to a linear regression model (Figure 11). The measurements were performed with an isocratic HPLC method (*system 7*, HPLC 55 iso). The molar activity of [¹⁸F]**103a**, [¹⁸F]**103b** or [¹²³I]**96** from the final product was calculated by dividing the radioactivity in GBq which was injected into the HPLC (normally between 10–100 kBq) by the calculated amount of the corresponding non-radioactive compound in μ mol derived from the respective fluorescence signal and the calibration curve (Figure 11).

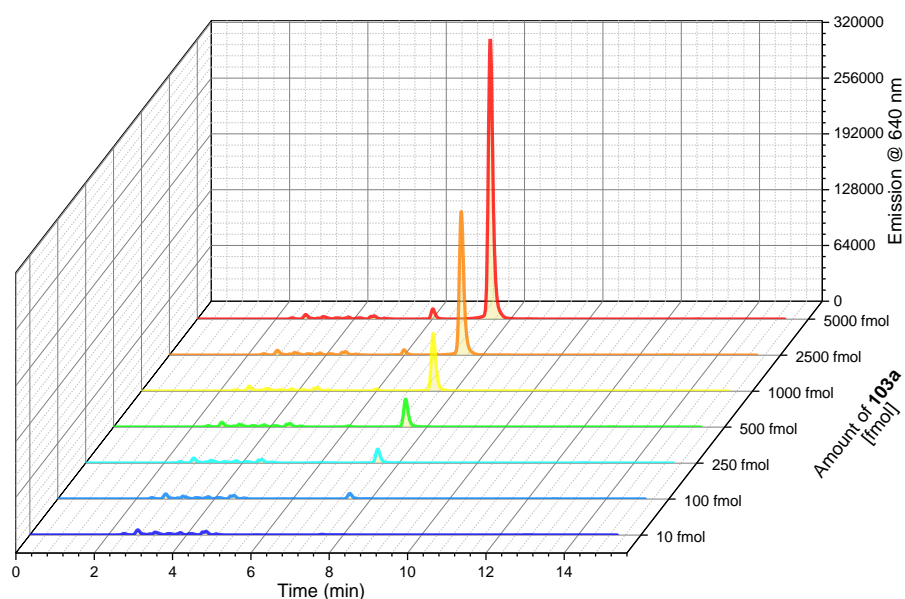


Figure 10: Various amounts of the non-radioactive Si-rhodamine as reference compound **103a** were injected into the HPLC and the corresponding emission chromatograms to determine the molar activity. Here molar amounts of 10 fmol to 5000 fmol were injected into the HPLC. The HPLC spectra were recorded by using the fluorescence detection ($\lambda_{exc}=600$ nm; $\lambda_{em}=640$ nm) with an isocratic HPLC method (system 7, HPLC 55 iso).

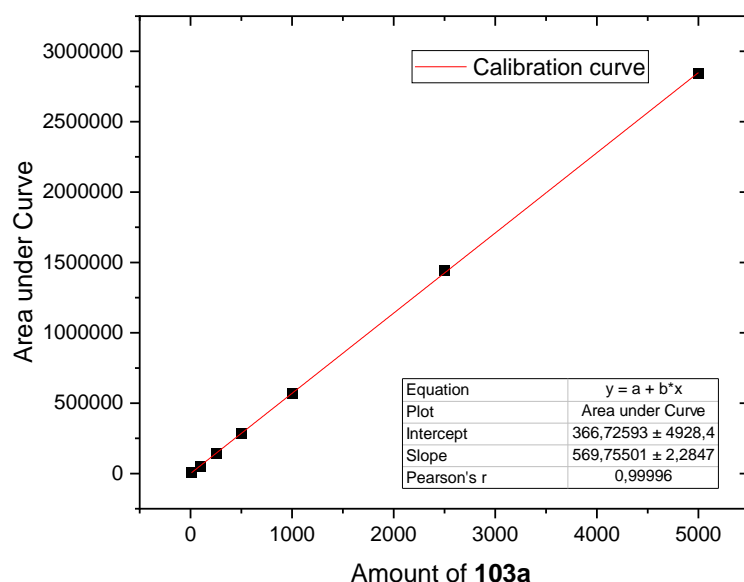


Figure 11: Calibration line for the determination of the molar activity as exemplary demonstrated for **103a**. Measured and integrated fluorescence detection (area under curve) of multiple dilution series interpolated with the amounts in femtomole of the non-radioactive reference compound **103a** and the resulting linear fit.

5.3.6 Determination of the partition coefficients of the radiolabeled Si-rhodamines

The partition coefficients of the radiochemical pure Si-rhodamines $^{99m}\text{Tc-78}$, $[^{18}\text{F}]\text{103a}$, $[^{18}\text{F}]\text{103b}$ and $[^{123}\text{I}]\text{109}$ were determined in PBS ($pH=7.4$) and *n*-octanol at room temperature using the shake flask method.^[309, 351]

For this purpose the technetium-99m complex **78** (20 μL with 2 MBq) dissolved in ethanol was added into an Eppendorf vial. Afterwards PBS ($pH=7.4$; 500 μL) and *n*-octanol (500 μL) were added to the technetium-99m complex **78**. The two phases were mixed for 30 minutes at room temperature. Then the aqueous and organic phases were separated from each other and were centrifuged at 4000 rpm for 10 minutes. Finally, two aliquots (100 μL) from each phase were carefully taken and the amount of radioactivity was measured by a gamma counter to determine the partition coefficient $\log D_{pH=7.4}$.

To determine the partition coefficients of $[^{18}\text{F}]\text{103a}$, $[^{18}\text{F}]\text{103b}$ or $[^{123}\text{I}]\text{109}$ (1 μL with 1 MBq in ethanol) the respective solution was added into an Eppendorf vial containing phosphate-buffered saline (PBS, 600 μL) and *n*-octanol (600 μL). The mixture was vortexed for one minute at room temperature. Afterwards the organic and aqueous phases were separated by using a centrifuge (5 minutes, 4 $^{\circ}\text{C}$; 13.200 rpm) and an aliquot from the *n*-octanol phase was taken (400 μL) and was added then to another Eppendorf vial containing PBS (400 μL). Again, the vial was vortexed for two minutes. Subsequently the phases were separated again by using the centrifuge (5 minutes, 4 $^{\circ}\text{C}$; 13.200 rpm). Finally, two aliquots (250 μL) from each phase were taken and the radioactive decay was counted by using a borehole detector.

The $\log D$ value at $pH=7.4$ was calculated for the radiolabeled Si-rhodamines by using the following equation:

$$\log D_{pH=7.4} = \log_{10} \frac{A_{\text{oct}}}{A_{\text{PBS}}} \quad (4)$$

A_{oct} describes the decay corrected counts per second from the *n*-octanol phase and the A_{PBS} stands for the decay corrected counts per second from the aqueous phosphate-buffered-saline (PBS) phase.

The reported value is the average between two and ten measurements.

$$\log D_{pH=7.4} (^{99m}\text{Tc-78})=1.11\pm 0.02 \quad (n=10)$$

$$\log D_{pH=7.4} ([^{18}\text{F}]\text{103a})=2.92\pm 0.32 \quad (n=3)$$

$$\log D_{pH=7.4} ([^{18}\text{F}]\text{103b})=3.22\pm 0.18 \quad (n=2)$$

$$\log D_{pH=7.4} ([^{123}\text{I}]\text{109})=3.48\pm 0.29 \quad (n=3).$$

5.3.7 Stability tests of complex **78**, [¹⁸F]**103a** and [¹⁸F]**103b** in saline and human serum

The *in vitro* stability of the purified pure technetium-99m complex **78** was determined in human serum. The technetium-99m complex **78** (50 µL) dissolved in PBS/EtOH (5%) was added to human serum (500 µL) and at several time points up to 24 hours the stability was evaluated at room temperature and at 37 °C. The stability was monitored after different time points by radio-TLC (monitored by reverse phase TLC: water/acetic acid 95:5). The degree of degradation was analyzed by comparison of the increasing amount of free pertechnetate on reverse phase TLC.

In vitro stability studies of [¹⁸F]**103a** and [¹⁸F]**103b** were determined either in a solution of isotonic saline (0.9%) or in human serum. The Si-rhodamine [¹⁸F]**103a** or [¹⁸F]**103b** dissolved in ethanol (20 µL) was added to saline (380 µL) or human serum (380 µL). Then the solutions were incubated at room temperature or at 37 °C for up to 120 minutes. The stability in saline was monitored after different time points by radio-HPLC HPLC (*system 7*, HPLC 55 iso). For samples which were incubated in human serum, aliquots were withdrawn after several time points, five-fold diluted and precipitated with acetonitrile, centrifuged and supernatants were separated and analyzed by HPLC. The stability was analyzed by analytical radio-HPLC (*system 7*, HPLC 55 iso). The degree of degradation was analyzed by integration of the area of [¹⁸F]**103a** or [¹⁸F]**103b** and the respective peaks of newly formed side products. The byproducts were not further characterized.

5.4 Determination of the optical properties of the Si-rhodamines

To determine the optical properties of the Si-rhodamines the dyes were dissolved in dry dimethyl sulfoxide (DMSO) to obtain a stock solution. The solutions were stored under argon atmosphere. The concentrations of the dark blue stock solutions were kept between 1.8 mM to 2.0 mM. The samples were measured directly in DMSO, in H₂O/EtOH (5%) or mixtures of DMSO in PBS with *pH*=7.4 starting from the prepared stock solutions. The final concentrations of all the stock solutions were kept between 0.2 µM and 1.2 µM. The samples in deionized water or PBS did not exceed 1% v/v of DMSO in the final solutions. The extinction coefficients of the absorbance maximum ϵ_{max} were calculated in agreement with the Lambert-Beer equation (5) while the maximum concentration of the dilution series was held below 5.00 µM:

$$E = c \cdot \epsilon \cdot d \quad (5)$$

E means the extinction, *c* stands for the concentration, ϵ describes the molar absorption coefficient and *d* describes the thickness of the used cuvette (*d*= 1 cm). As an example for the determination of the molar absorption coefficient of Si-rhodamine **103a** the following plot in

DMSO is shown (Figure 12). The slope of the relation between the concentration and the respective absorption describes the molar absorption coefficient.

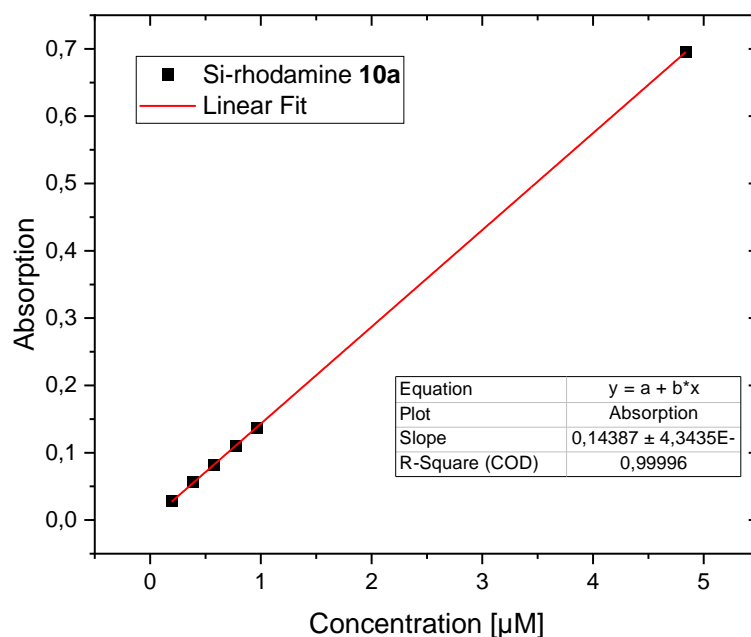


Figure 12: The relationship between the concentration of Si-rhodamine **103a** in DMSO and the respective absorbance for the determination of the molar absorption coefficient ϵ_{max} after evaluation of five different solutions.

To determine the quantum yield, the dyes were diluted in a series with corresponding maximum absorbance between 0.01 and 0.1 to avoid non-linear effects (re-absorption) effects for all the presented dyes.^[352] Therefore the highest value for absorbance was plotted against the integrated fluorescence intensity and was then fitted by using a linear regression line. The fitted values of the slopes were used for calculating the fluorescence quantum yield according to equation (6):

$$QY_X = QY_S \cdot \frac{m}{m_{ref}} \cdot \frac{\eta}{\eta_{ref}} \quad (6)$$

QY_X is the unknown quantum yield and QY_S stands for the quantum yield of the reference substance $[\text{Ru}(\text{bipy})_3]\text{Cl}_2$ in water ($\Phi_F=0.042$) or Nile Blue A in ethanol ($QY_S=0.27$), m and m_{ref} describe the respective slopes of the linear fit of the integrated emission and η and η_{ref} stand for the refractive index of the corresponding solvent.^[238, 299] An example plot to acquire the required data for the calculation of the quantum yield of Si-rhodamine **103a** in DMSO is shown in Figure 13.

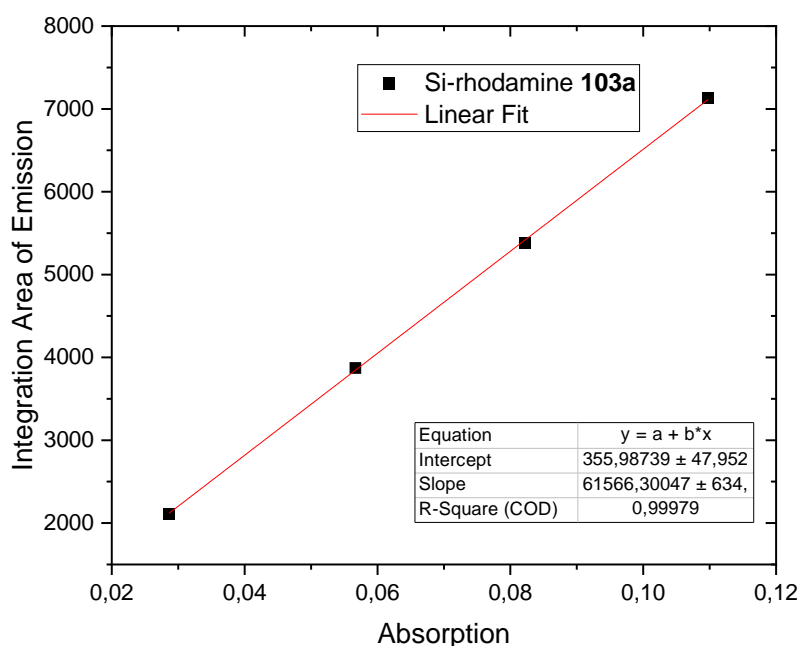


Figure 13: Relation between the absorption and the area under the curve from the corresponding fluorescence spectra of four samples to exemplary determine the quantum yield of Si-rhodamine **103a** in DMSO.

5.5 Determination of the partition coefficient of **134** via absorption measurements

The partition coefficient of the Si-rhodamine **134** was determined by using the shake flask method in PBS ($pH=7.4$) and *n*-octanol at room temperature following a reported method.^[337-338] The measurements were performed based on the absorption properties of the Si-rhodamine **134**. A solution of **134** in anhydrous DMSO (100 μ M; 10 μ L) was added to PBS ($pH=7.4$; 500 μ L). Then the absorption was determined by using the UV-Vis-NIR device. Afterwards *n*-octanol (500 μ L) was added to the aqueous phase and the mixture was vortexed for three minutes at room temperature. Then the organic and aqueous phases were separated by using a centrifuge (2 minutes, at rt). After centrifugation the PBS phase (400 μ L) was analyzed via UV-Vis-NIR and the concentration of **134** in PBS was calculated by using the Lambert-Beer equation (5). The following equation was used to calculate the partition coefficient of **134**.

$$\log D_{pH=7.4} = \log_{10} \frac{c_{oct}}{c_{PBS}} \quad (7)$$

$$\log D_{pH=7.4} (\mathbf{134}) = -1.23 \pm 0.26 \quad (n=5)$$

According to (7) c_{oct} stands for the concentration of **134** of in the *n*-octanol phase and c_{PBS} stands for the concentration of **134** in the aqueous PBS phase.

5.6 Confocal laser scanning microscopy – mitochondrial colocalization experiments with PC3-cells

Confocal laser scanning microscopy was performed using PC-3 cells. The cells were cultured in Glutamax™ high glucose Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM; Gibco™, purchased from Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, USA) supplemented in 10% fetal bovine serum (FBS; F7524, Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, USA) and penicillin/streptomycin (Biochrom A2213, 10,000 U/mL) at 37 °C in humidified air containing 5% CO₂. A day prior to the confocal laser scanning experiments the cells were seeded onto an 8-well chamber slide (μ -Slide 8 Well Plates™, ibidi®; Gräefeling, Germany) with $1.3 \cdot 10^5$ cells per well. The next day, the cells were washed once with DMEM followed by a staining process with **103a** and **103b** (1 μ M in DMEM, additive: 0.1% DMSO) for 30 minutes at 37 °C and 5% CO₂. Then the staining solution was gently removed and the cells were washed with DMEM. The cells were stained with Mitotracker Green FM™ (100 nM in DMEM, additive: 0.1% DMSO; Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, USA) for 20 minutes at 37 °C and 5% CO₂. After another removal and washing step with DMEM the cell nuclei were stained with Invitrogen™ Hoechst 33342 (trihydrochloride, trihydrate solution in water; 10 mg/mL; 16.2 mM). For this purpose, Hoechst 33342 was diluted for cell experiments in a ratio of 1:20.000 with DMEM, purchased from Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, USA) and cells were incubated for 30 minutes at 37 °C and 5% CO₂. The staining solution was removed and the cells were washed then with DMEM and the samples were measured with confocal laser scanning microscopy within one hour. The excitation wavelength for the SiRs was 635 nm (laser power: 5% for SiR **103a** and 6% for **103b**), for the Mitotracker Green FM™ it was 488 nm (laser power: 17%) and for Hoechst 33342 the excitation was at 405 nm (laser power: 3%). Images were taken in sequential mode using Kalman average of three scans.^[348] The Pearson's correlation coefficients (PCC) were calculated according to the ImageJ plugin JACoP.^[353]

5.7 Fluorescent binding assay

The fluorescent binding assay was performed by Dr. Cornelius Donat (Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf, Institute for Radiopharmaceutical Cancer Research, Department for Translational TME-Ligands) on a Typhoon™ FLA 9500 (GE Healthcare, Boston, USA) imaging system. For this purpose a wild-type LNCaP cell line was cultivated in cell culture flasks (75x175 mm²) in Roswell Park Memorial Institute medium (RPMI 1640; Gibco™, purchased from Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, USA) supplemented in 10% fetal

bovine serum (FBS; F7524, Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, USA), penicillin/streptomycin (Biochrom A2213, 10,000 U/mL), non-essential amino acids (1%) and *L*-alanine/*L*-glutamine (1%) at 37 °C in humidified air containing 5% CO₂. Two days prior the binding assay was carried out the cultivation of the LNCaP cell line was conducted in Falcon® 48-well cell culture plates with 40.000 cells per well. The Si-rhodamine **134** was dissolved in PBS/EtOH (5%; 1.00 mM) and was used as stock solution and 2-phosphonomethyl pentanedioic acid (2-PMPA) was used as blocking agent (>300-fold excess).

To determine the cell binding the LNCaP cells were acclimatized on the 48-well plate to 0 °C within 15 minutes. Afterwards the cells were pretreated with a buffer solution (PBS+5% bovine serum albumin (BSA) or PBS+0.5% TritonX-100) and 2-PMPA (250 µM) for 15 minutes. Then diluted solutions of the non-radioactive Si-rhodamine **134** (500 nM, 250 nM, 125 nM and 62.5 nM) were added to the cells and were then incubated for 90 minutes at 0 °C under light exclusion. At the same time another well plate was treated in the same manner without LNCaP cells to determine undesired binding properties from the Falcon with **134**. After 90 minutes the solutions were removed and the cells were washed with the buffer (PBS+5% bovine serum albumin (BSA) or PBS+0.25% TritonX-100). Then the cells were treated with lysis buffer (0.1 M NaOH+1% sodium dodecyl sulfate (SDS)) under exclusion of light for 30 minutes. Subsequently 200 µL of each well were transferred into a 96-well plate containing a transparent bottom. Finally, the resulting fluorescence of each well was detected with the imaging system (Typhoon™ FLA 9500, short wave infrared, PMT 500, 25 µm pixels) and the resulting data was analyzed with the Quantity One and GraphPad Prism 9 software.

5.8 Determination of half-maximal inhibitory concentration (IC₅₀)

A wild-type LNCaP cell line was cultivated in cell culture flasks (75x175 mm²) in RPMI 1640 medium (Gibco™, purchased from Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, USA) supplemented in 10% fetal bovine serum (FBS; F7524, Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, USA), penicillin/streptomycin (Biochrom A2213, 10,000 U/mL), non-essential amino acids (1%) and *L*-alanine/*L*-glutamine (1%) at 37 °C in humidified air containing 5% CO₂. Four days prior the binding assay was performed the cultivation of the LNCaP cell line was conducted in Falcon® 48-well cell culture plates with 40.000 cells per well. The Si-rhodamine **134** was dissolved in PBS/EtOH (5%; 1.00 mM) and was used as stock solution and 2-PMPA dissolved in PBS containing bovine serum albumin (5%) was used as blocking agent with different concentrations (50 mM, 12.5 mM, 6.25 mM, 3.13 mM, 1.56 mM, 0.78 mM, 0.39 mM, 0.20 mM).

The cells were acclimatized on the 48-well plate to 4 °C within 15 minutes. Afterwards the cells were pretreated with the buffer solution PBS containing BSA (5%) and different concentrations

of 2-PMPA for 15 minutes. Then a diluted solution of the non-radioactive Si-rhodamine **134** (125 nM) was added to the cells and was then incubated for 90 minutes at 4 °C under light exclusion. At the same time another well plate was treated in the same manner without LNCaP cells to determine undesired binding properties from the Falcon with **134**. After 90 minutes the solutions were removed and the cells were washed twice with the buffer solution for one minute at 4 °C. Then the cells were treated with lysis buffer (0.1 M NaOH+1% SDS) for 30 minutes under light exclusion. Subsequently 200 µL of each well were transferred into a 96-well plate containing a transparent bottom. Finally, the resulting fluorescence of each well was detected with the imaging system (Typhoon™ FLA 9500, short wave infrared, PMT 500, 25 µm pixels). The resulting data was analyzed with the Quantity One software and was plotted in a nonlinear relationship then by using GraphPad Prism 9.

5.9 *In vitro* fluorescence detection of stained tissue

Different types of tissue (LNCaP wild-type tumor tissue, PC-3 tumor tissue and muscle tissue) were removed from mice (NMRI-Foxn1-nude) and were flash frozen in 2-methylbutane with dry ice (ca. -50 °C). Then the frozen tissue was sliced into 12 µm thick pieces via the Leica cryomicrotome. Afterwards the tissue on the microscope slide was acclimatized to room temperature for nearly 15 minutes. Subsequently, the different tissues were incubated with a solution of buffer (tris(hydroxymethyl)aminomethane(tris)-HCl (170 mM; *pH*=7.4), bacitracin (40 µg/mL), MgCl₂ (5 mM), 1% BSA or PBS+0.5% BSA) for 15 minutes at room temperature. Then the non-radioactive Si-rhodamine **134** in PBS+5% EtOH (10 µM) and 2-PMPA (3.00 mM) were added to the tissue and were incubated for 90 minutes at room temperature under light exclusion. Afterwards the tissues were washed with the buffer two times with five minutes washing step each (tris-HCl (170 mM; *pH*=7.4), MgCl₂ (5 mM)+0.25% BSA) and PBS+ 0.5% BSA) and another washing step with deionized water for one further minute. After the washing process the tissues were dried under air and the remaining fluorescence was detected with the imaging system (Typhoon™ FLA 9500, short wave infrared, PMT 500, 25 µm pixels) and the resulting images were analyzed with the Quantity One and GraphPad Prism 9 software.^[354-355]

5.10 *In vivo/ex vivo* mice experiments

Into the right shoulder of NMRI-Foxn1-nude mice (type: Crl:NMRI-Foxn1^{nu}, *n*=2) LNCaP wild-type tumor xenografts (number of cells: 5.00x10⁶) were inoculated and the tumor was allowed to gradually grow for about four weeks. After a minimum of a tumor size of 5 mm the mice were narcotized with desflurane (10–12%) in oxygen. The non-radioactive Si-rhodamine **134** (ca. 100 µg; stock solution: 1.00 mM in PBS+5% EtOH, 64.2 µL, 64.2 nmol) was injected into

the right or left venae cavae. Then the distribution of the conjugated dye **134** was visualized after several time points (up to 25 hours) with the imaging system (Typhoon™ FLA 9500, short wave infrared, PMT 500, $\lambda_{\text{ex}}=640$ nm; $\lambda_{\text{em}}=670$ nm) and the images were analyzed with the Quantity One software. After 25 hours one mice was sacrificed and several tissues (tumor, liver, kidney and muscle) were removed from mice for analysis. The tissues were flash frozen in 2-methylbutane with dry ice (ca. -50 °C). Then the frozen tissue was sliced into 12 μm thick pieces via the Leica cryomicrotome. Finally, for *ex vivo* studies the remaining fluorescence on the tissues was detected with the imaging system (Typhoon™ FLA 9500, short wave infrared, PMT 500, 25 μm pixels) and the resulting images were analyzed with the Quantity One and GraphPad Prism 9 software.

6. Anhang

6.1 NMR-Spektren

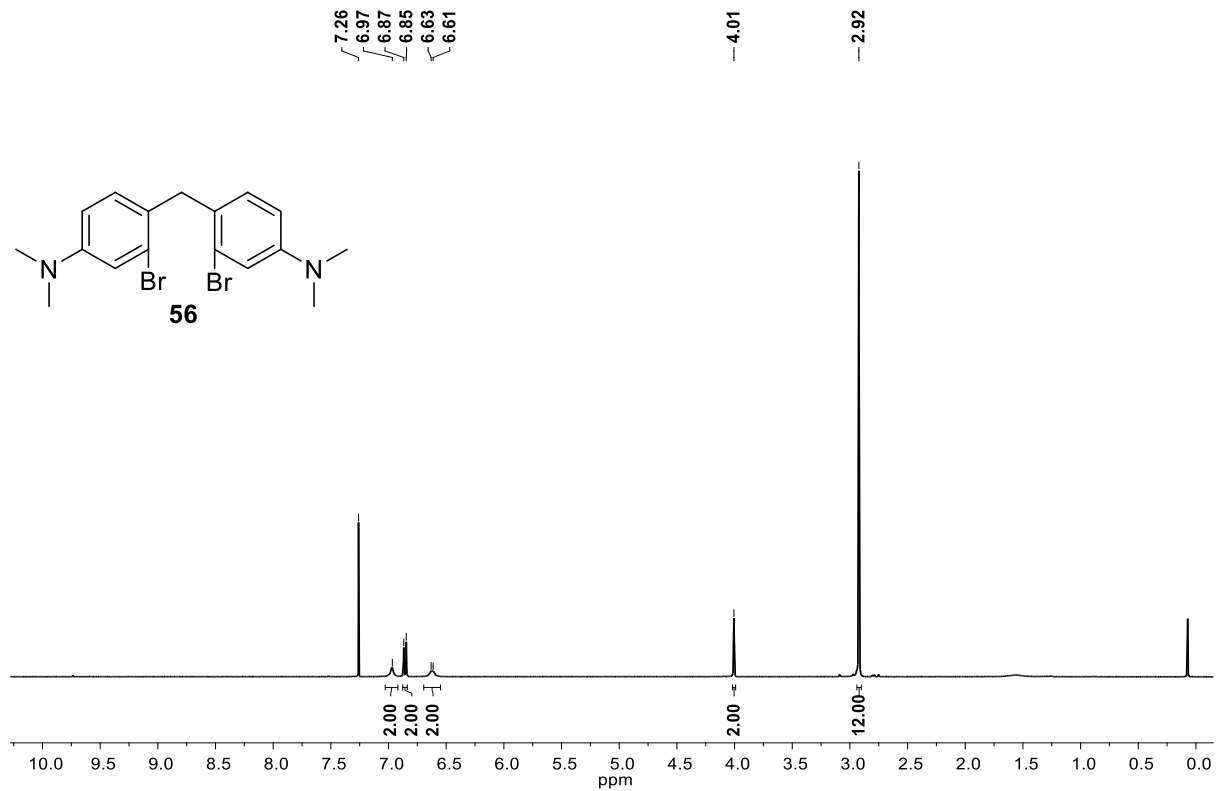


Abbildung 32: ¹H-NMR-Spektrum von **56** in Chloroform-*d* (400 MHz, 300 K).

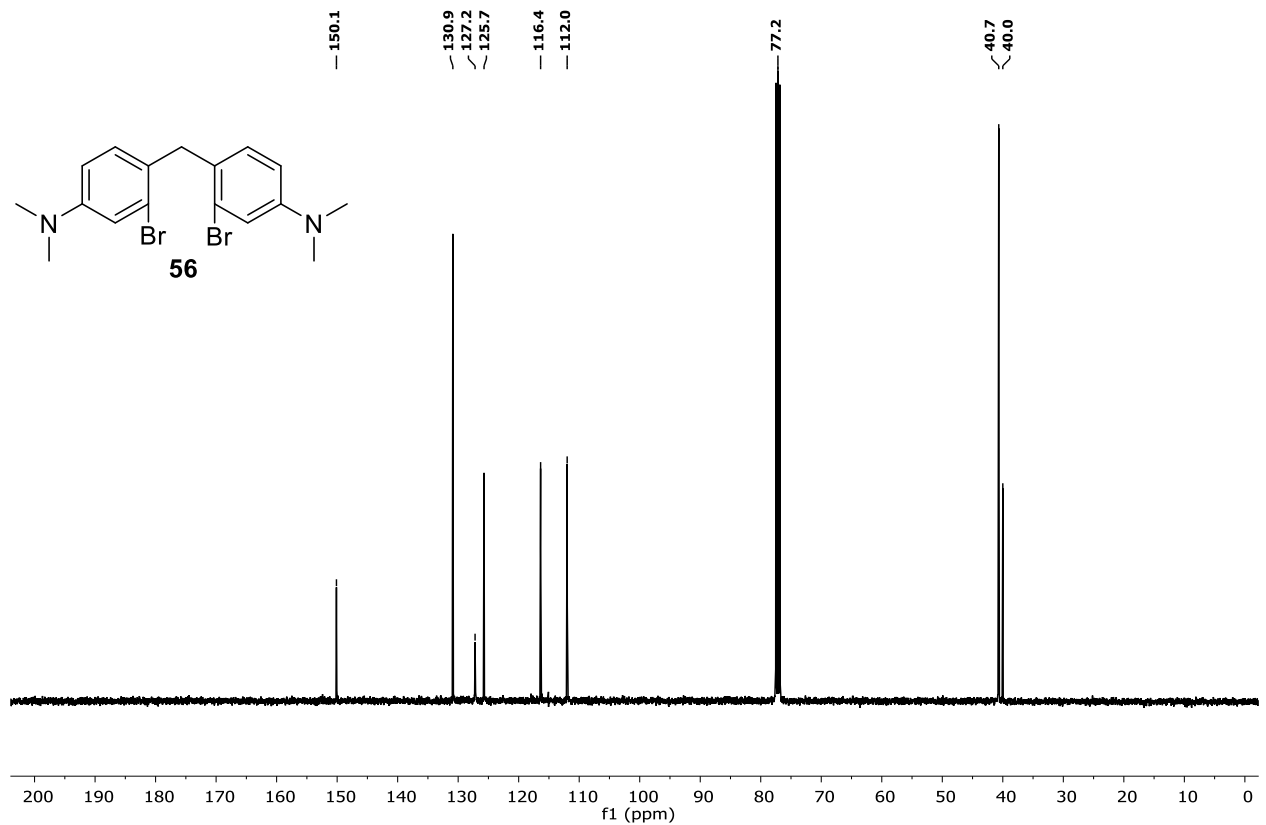


Abbildung 33: ¹³C-NMR-Spektrum von **56** in Chloroform-*d* (101 MHz, 300 K).

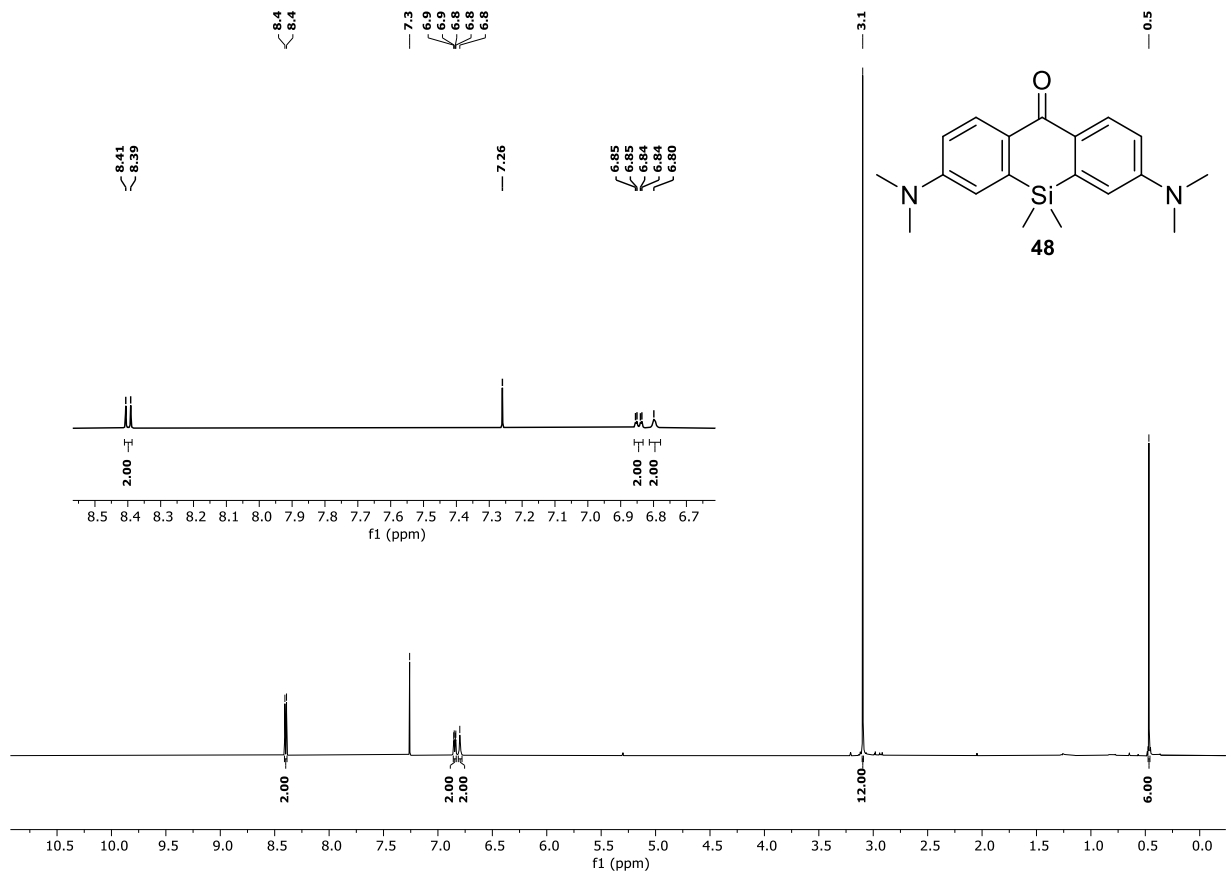


Abbildung 34: ^1H -NMR-Spektrum von **48** in Chloroform-*d* (400 MHz, 300 K).

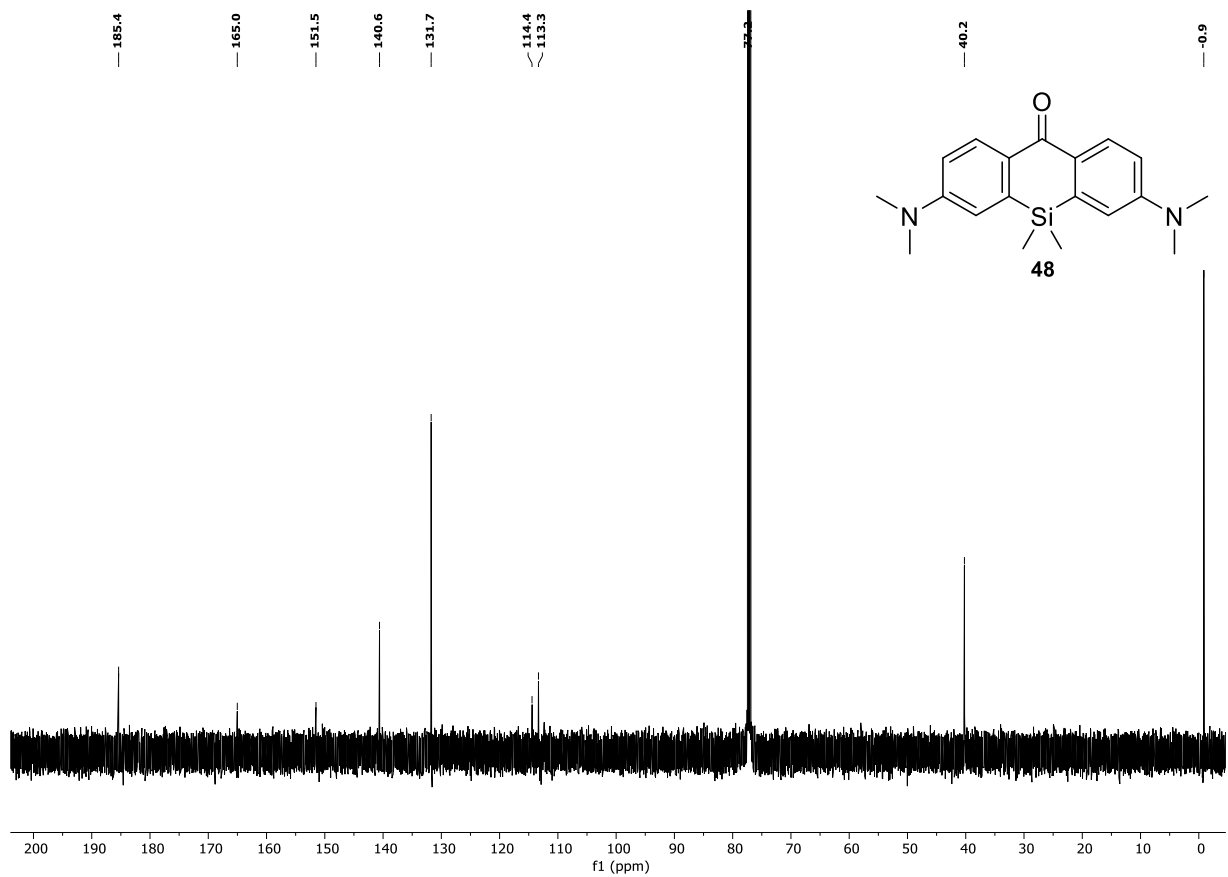


Abbildung 35: ^{13}C -NMR-Spektrum von **48** in Chloroform-*d* (151 MHz, 300 K).



Abbildung 36: ^1H -NMR-Spektrum von **88** in Chloroform-*d* (400 MHz, 300 K).

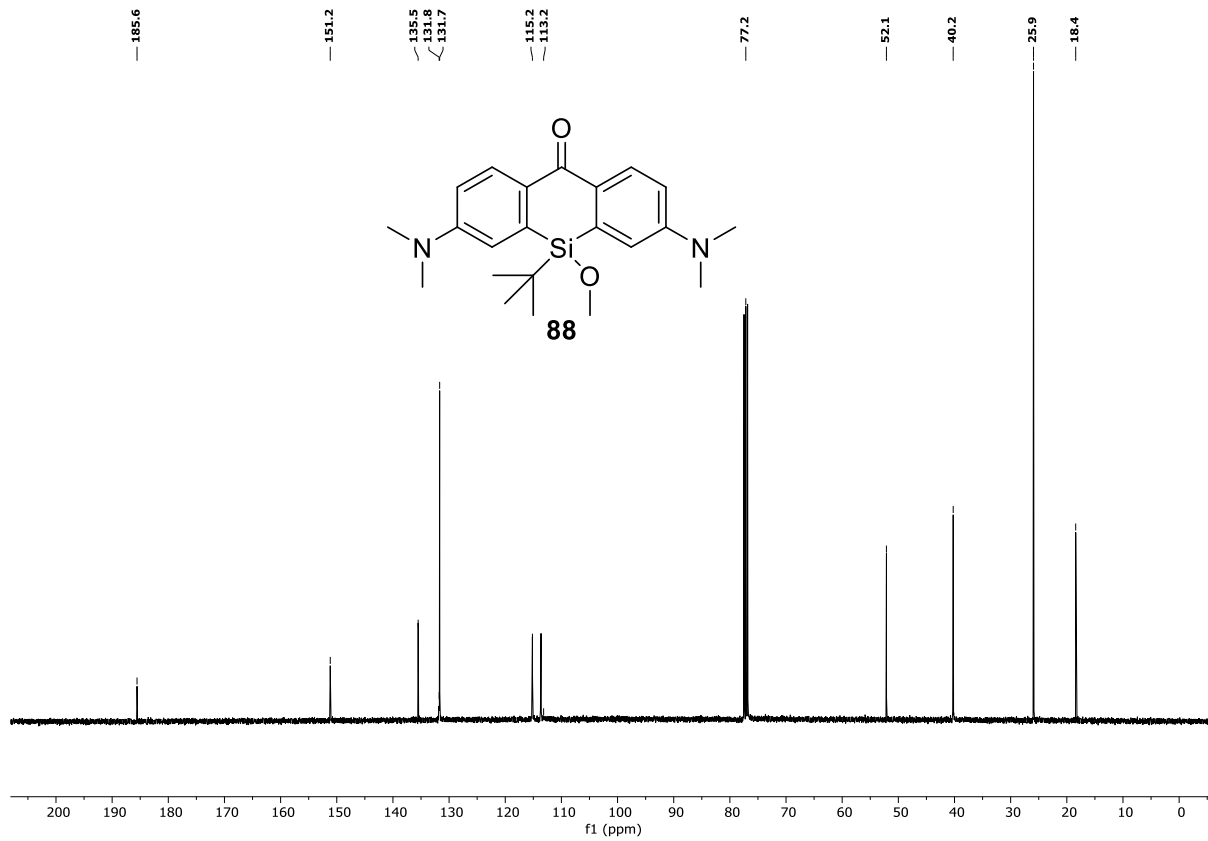
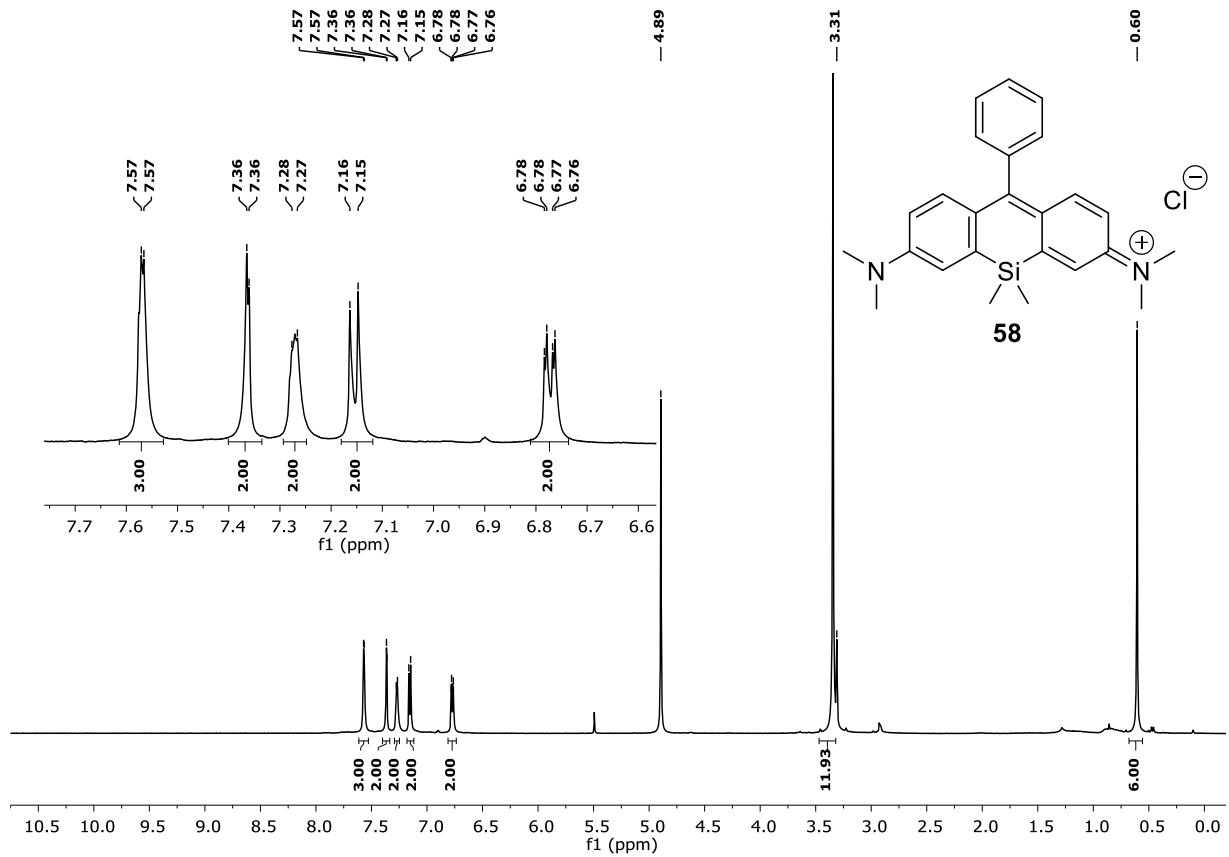
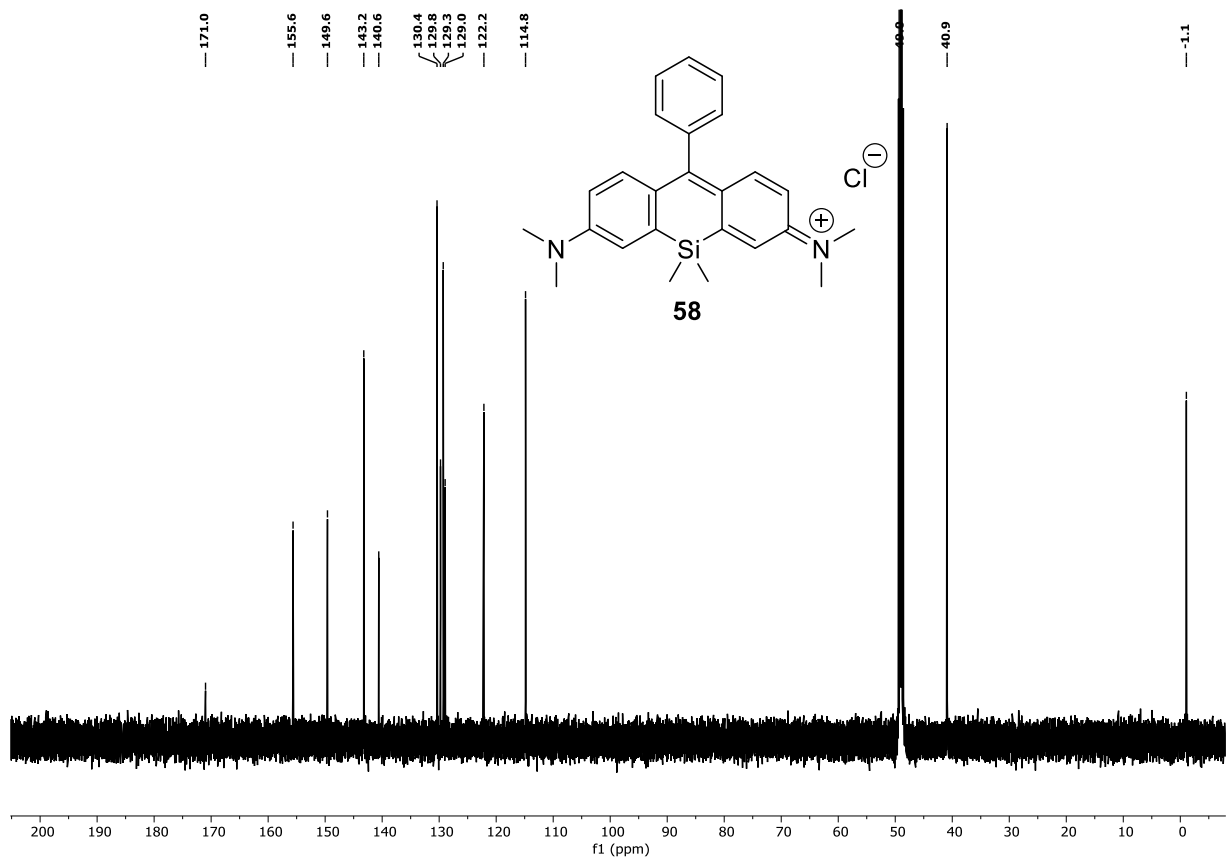


Abbildung 37: ^{13}C -NMR-Spektrum von **88** in Chloroform-*d* (101 MHz, 300 K).

Abbildung 38: ^1H -NMR-Spektrum von **58** in Methanol- d_4 (600 MHz, 300 K).Abbildung 39: ^{13}C -NMR-Spektrum von **58** in Methanol- d_4 (151 MHz, 300 K).

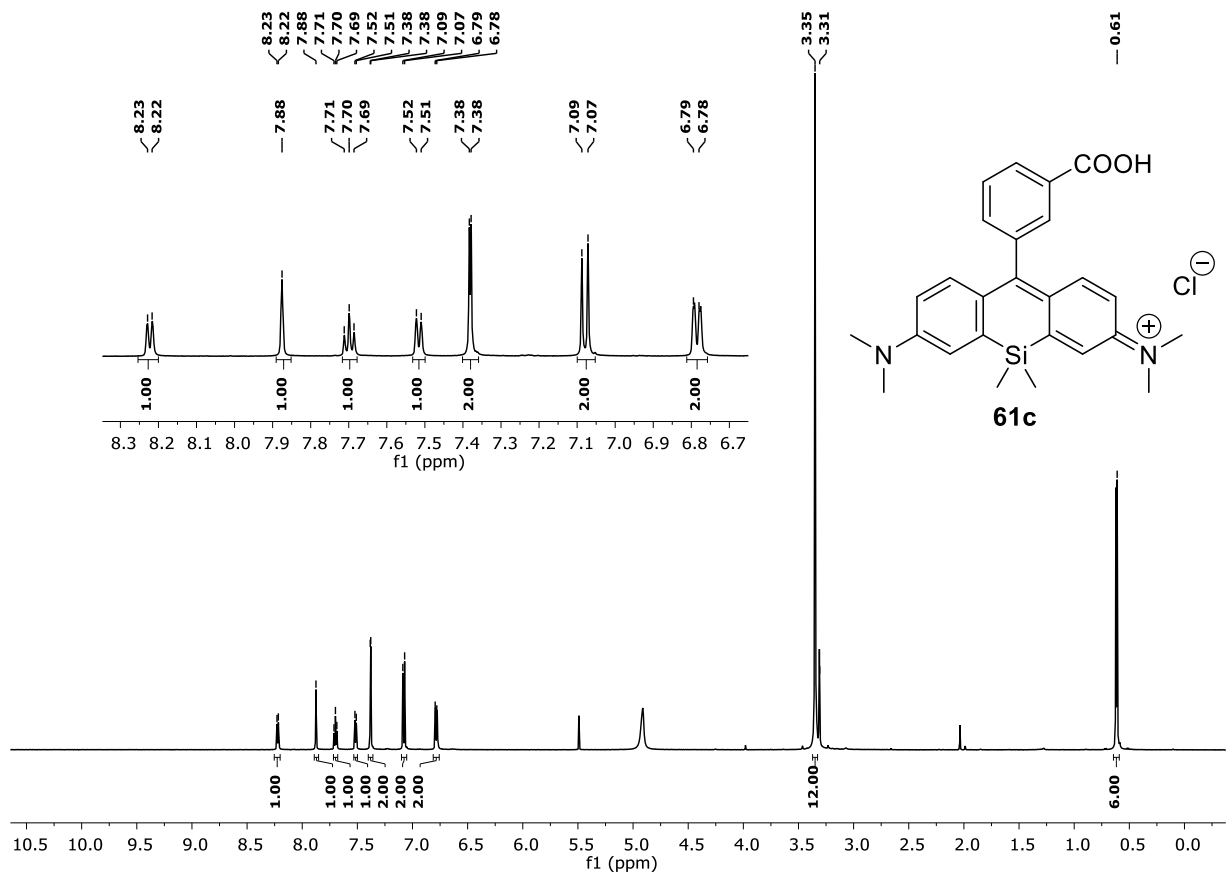


Abbildung 40: ^1H -NMR-Spektrum von **61c** in Methanol- d_4 (600 MHz, 300 K).

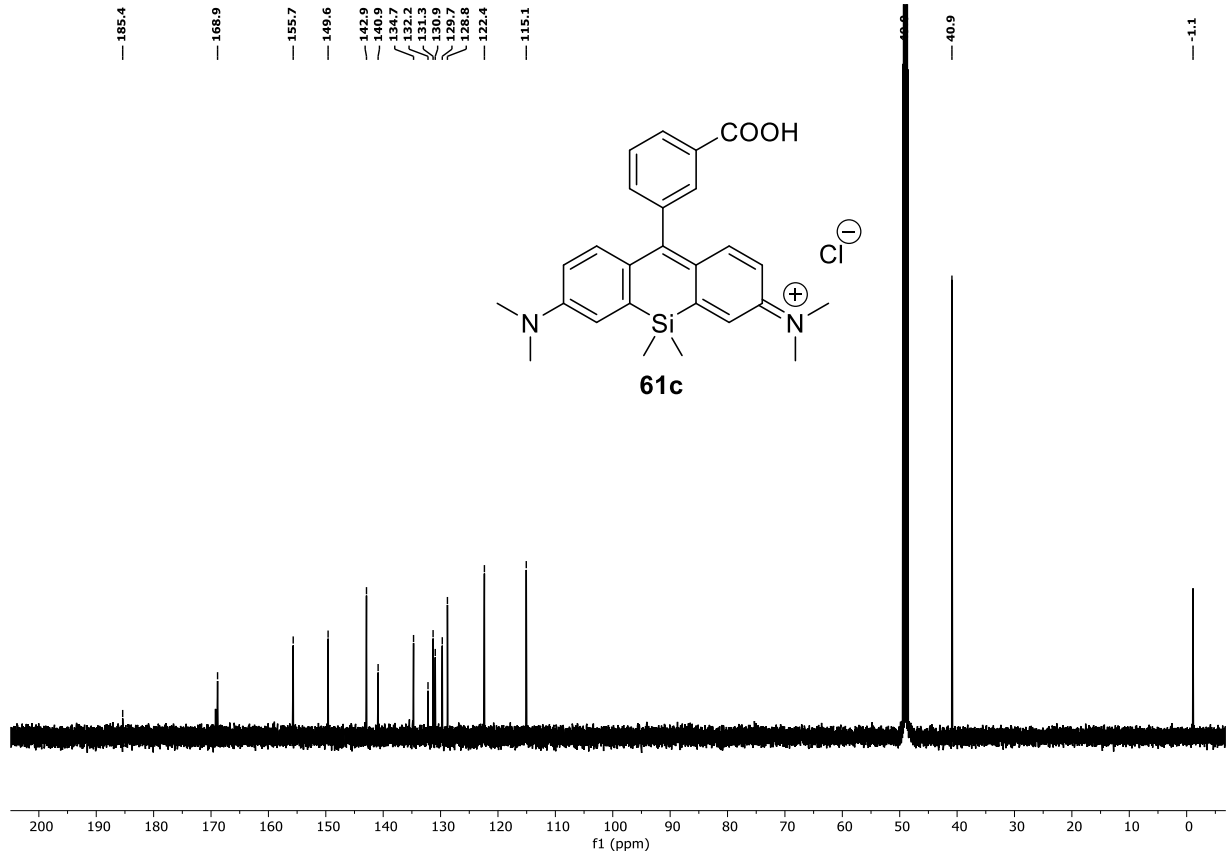


Abbildung 41: ^{13}C -NMR-Spektrum von **61c** in Methanol- d_4 (151 MHz, 300 K).

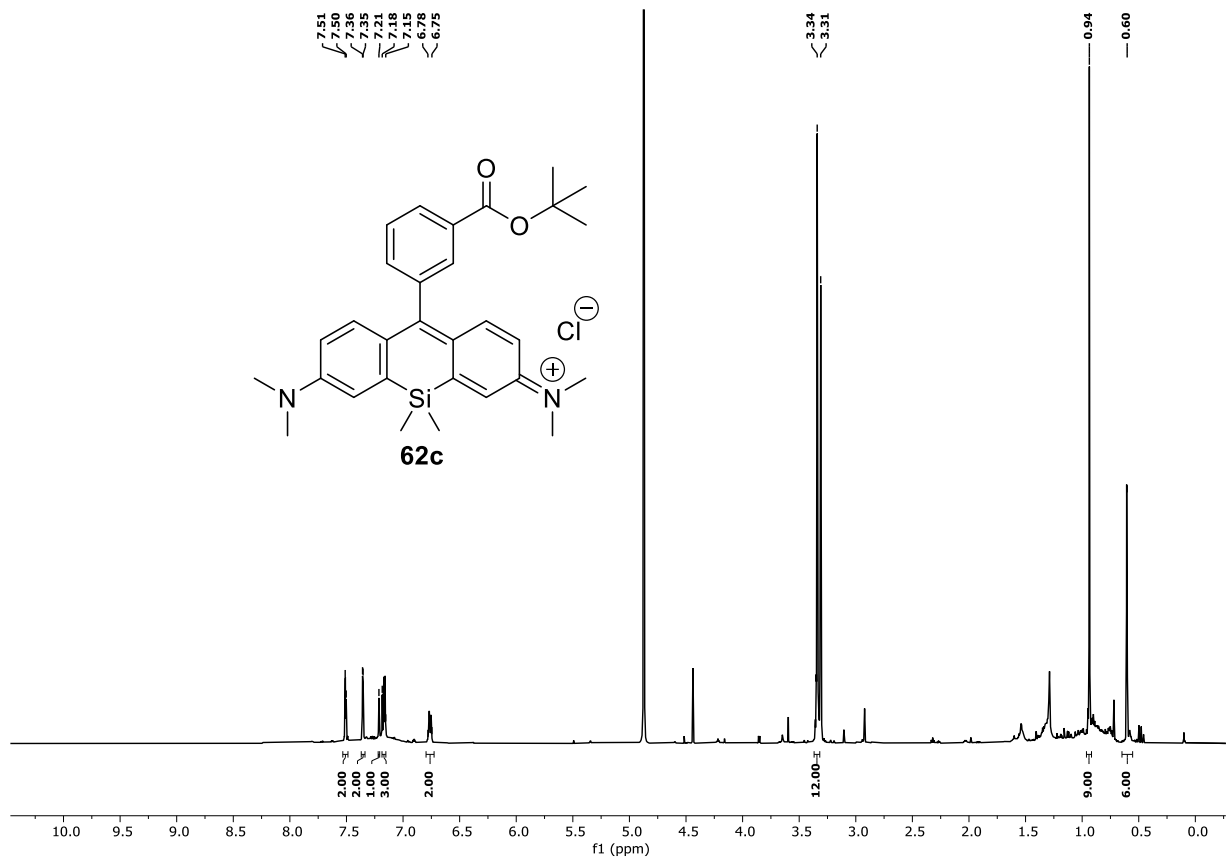


Abbildung 42: ^1H -NMR-Spektrum von **62c** in Methanol- d_4 (400 MHz, 300 K).

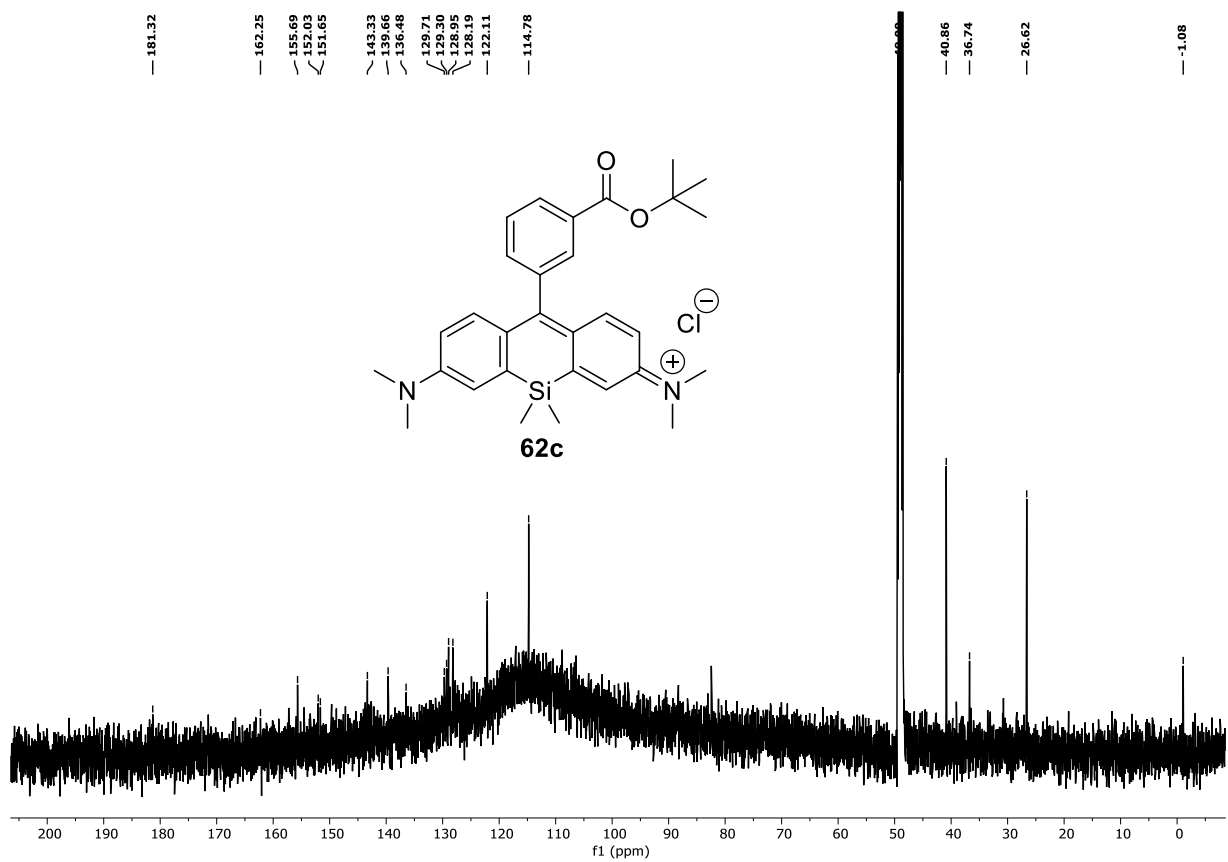


Abbildung 43: ^{13}C -NMR-Spektrum von **62c** in Methanol- d_4 (151 MHz, 300 K).

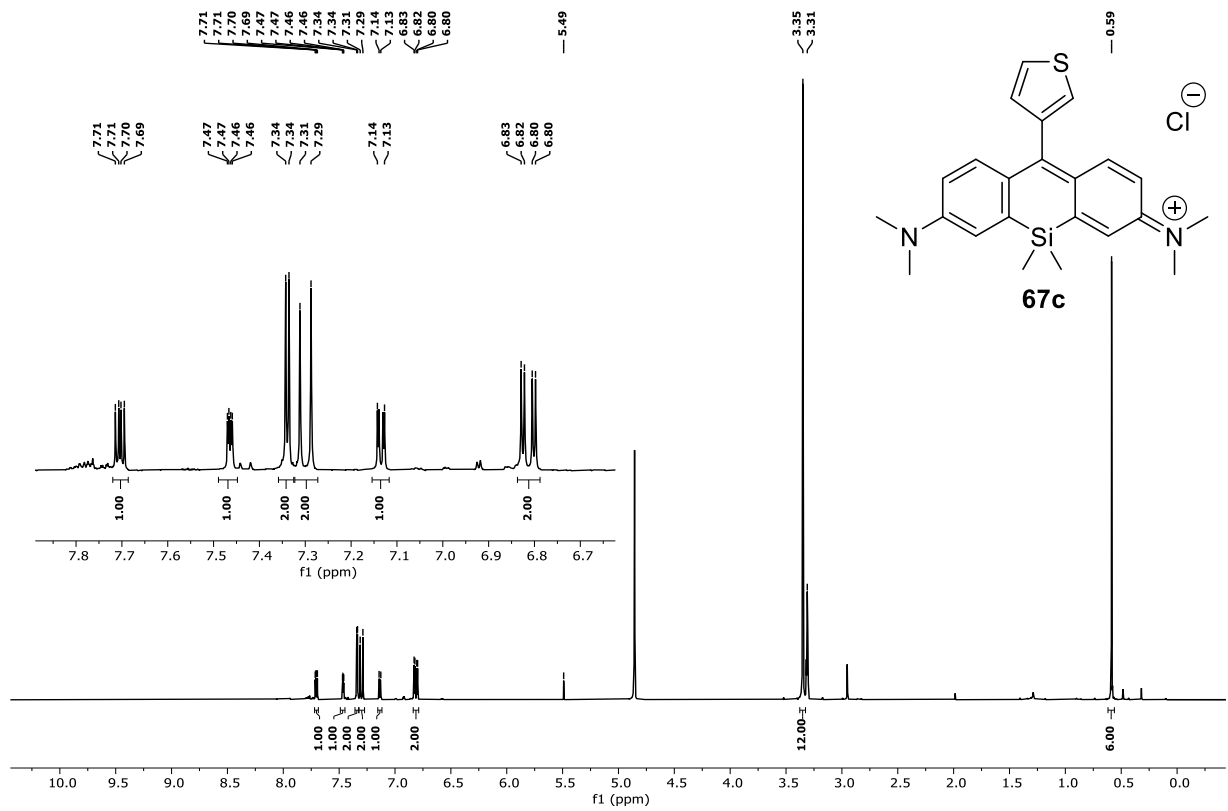


Abbildung 44: ^1H -NMR-Spektrum von **67c** in Methanol- d_4 (400 MHz, 300 K).

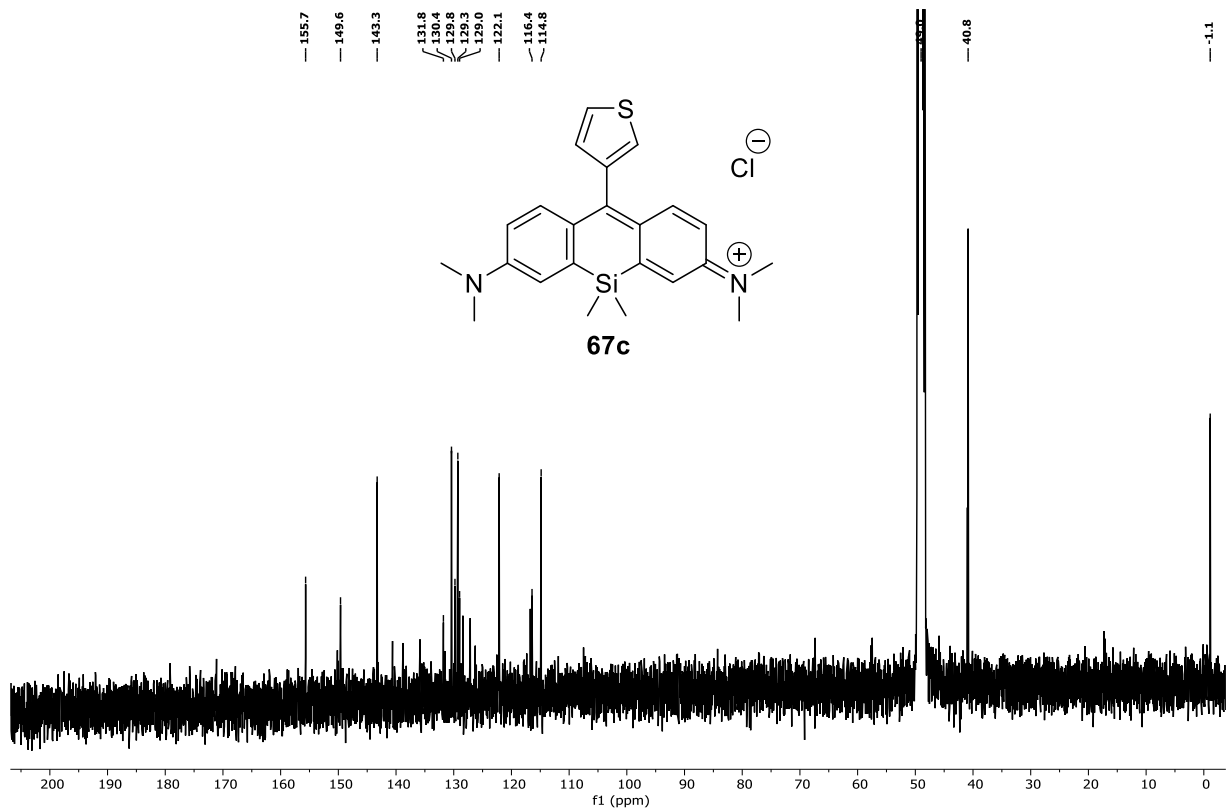


Abbildung 45: ^{13}C -NMR-Spektrum von **67c** in Methanol- d_4 (151 MHz, 300 K).

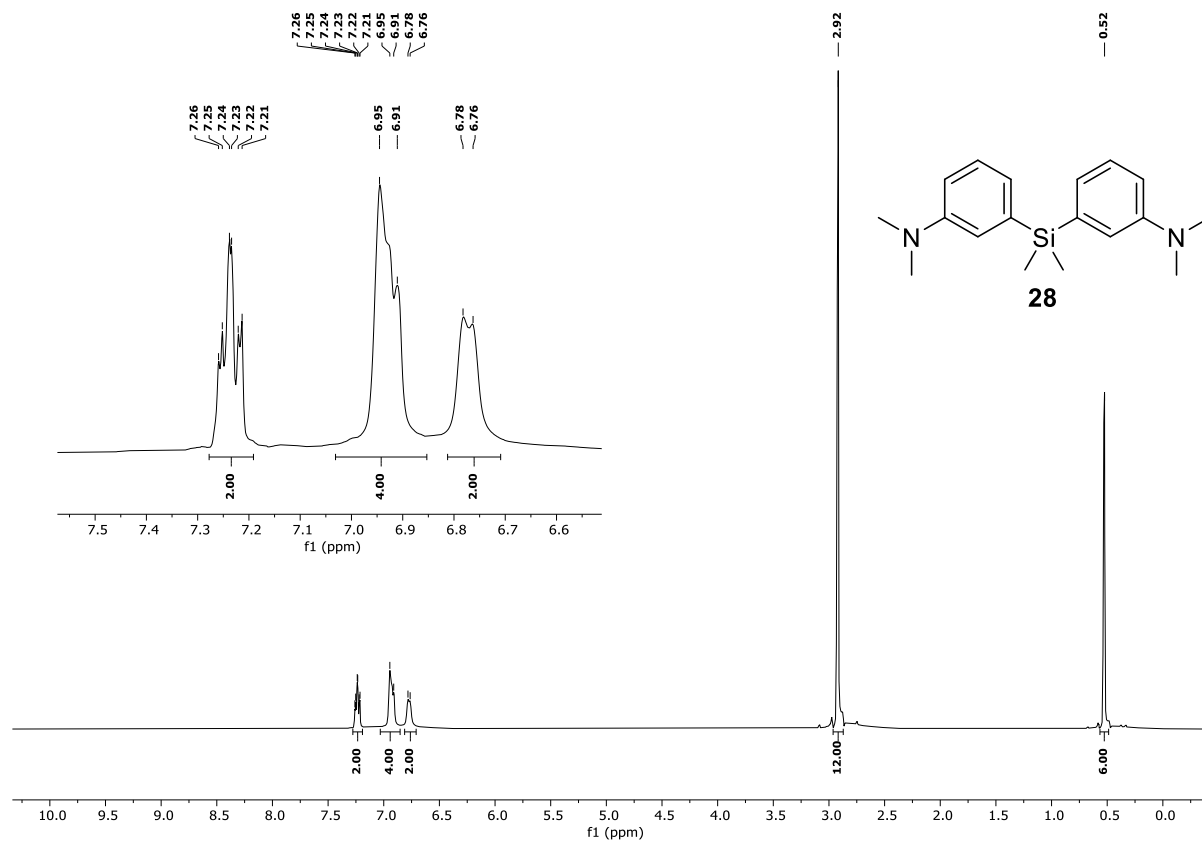


Abbildung 46: ^1H -NMR-Spektrum von **28** in Chloroform-*d* (400 MHz, 300 K).

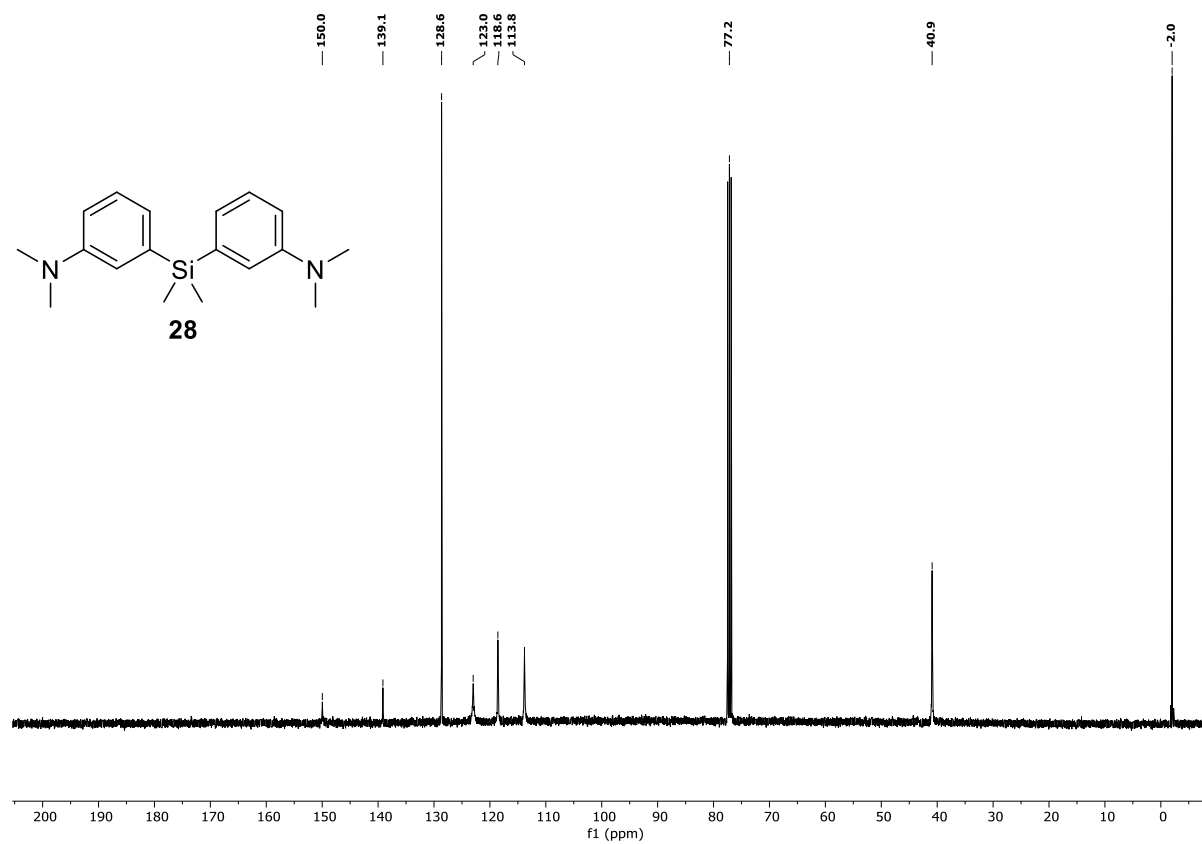


Abbildung 47: ^{13}C -NMR-Spektrum von **28** in Chloroform-*d* (101 MHz, 300 K).

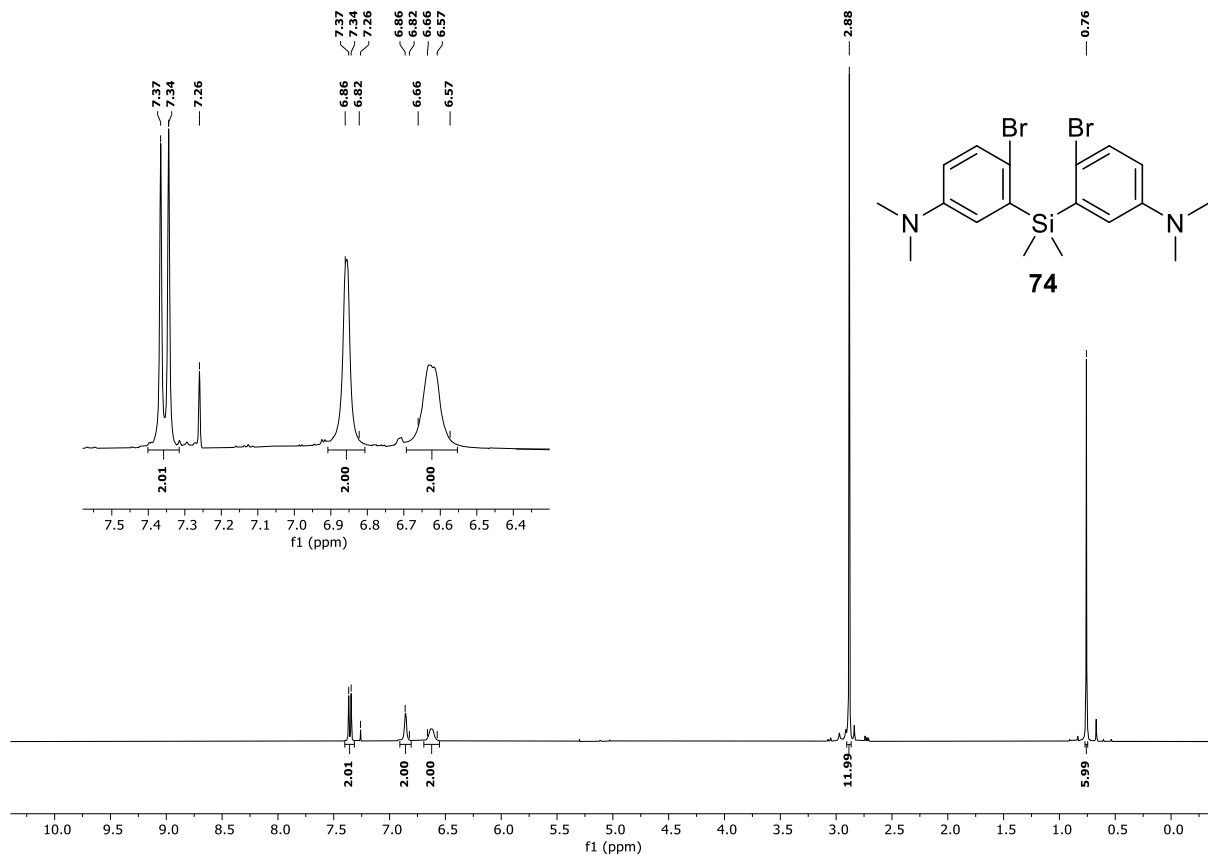


Abbildung 48: ^1H -NMR-Spektrum von **74** in Chloroform-*d* (400 MHz, 300 K).

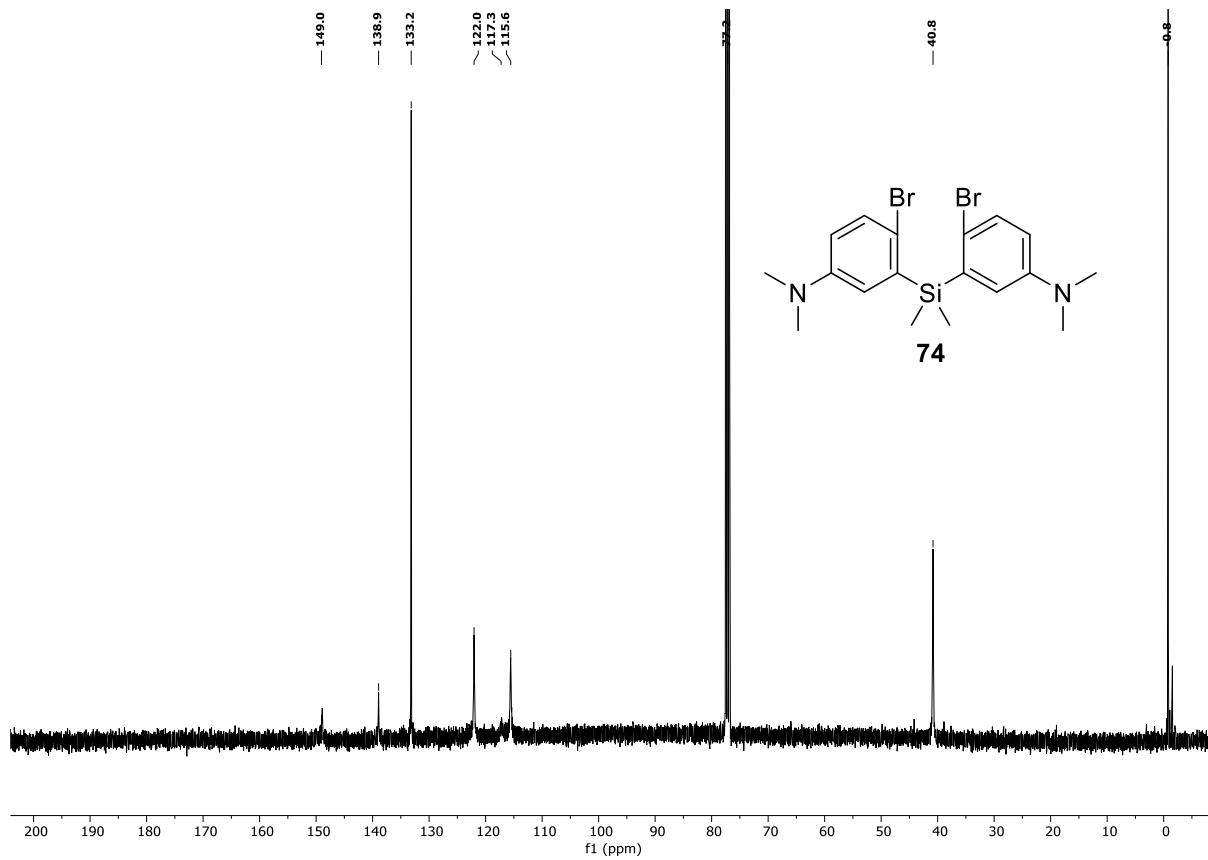


Abbildung 49: ^{13}C -NMR-Spektrum von **74** in Chloroform-*d* (101 MHz, 300 K).

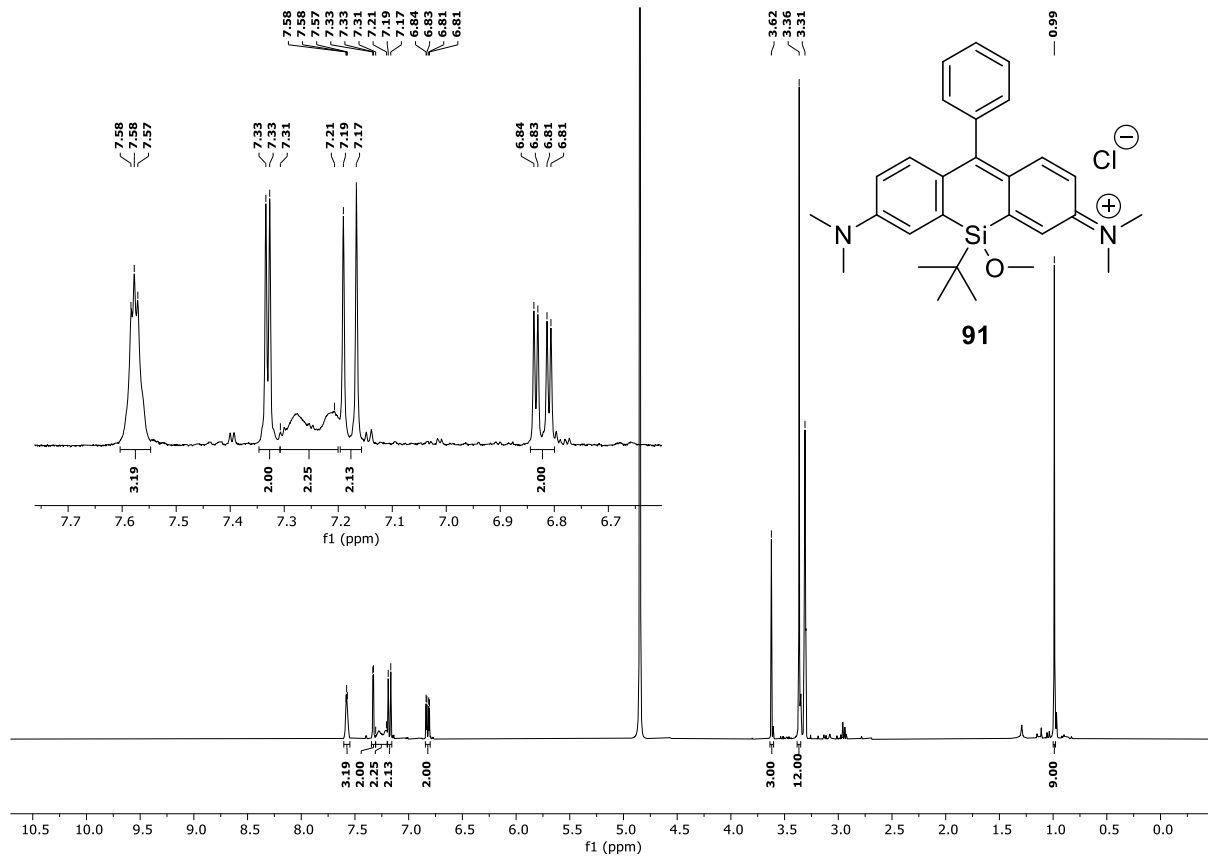


Abbildung 50: ^1H -NMR-Spektrum von **91** in Methanol- d_4 (400 MHz, 300 K).

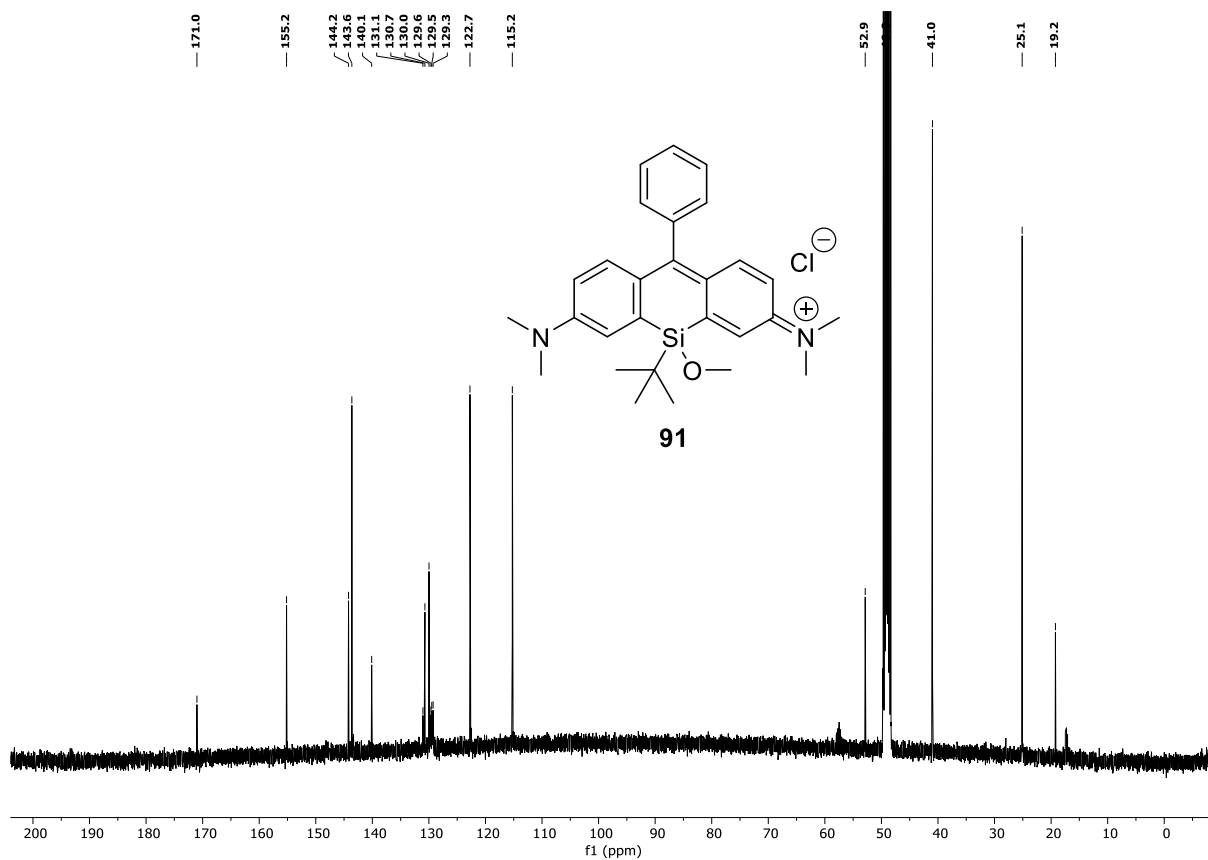
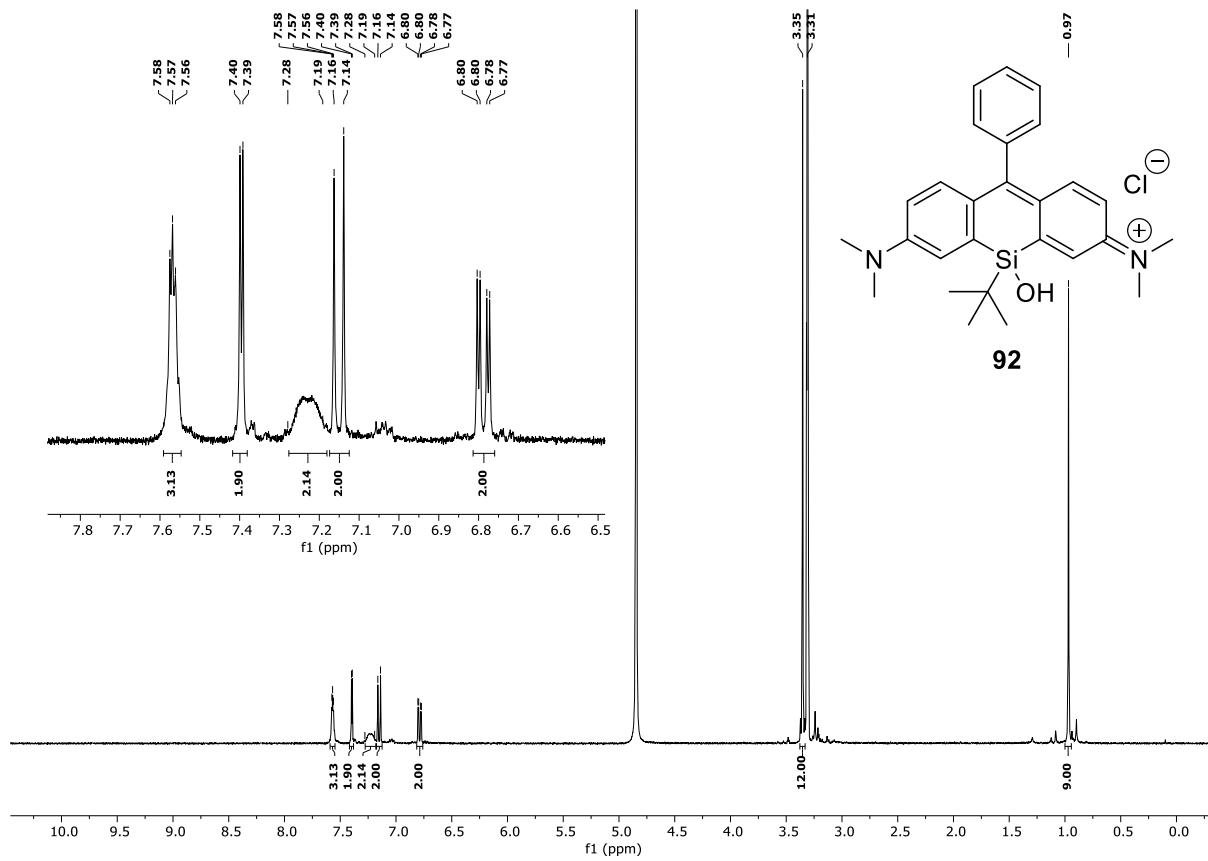
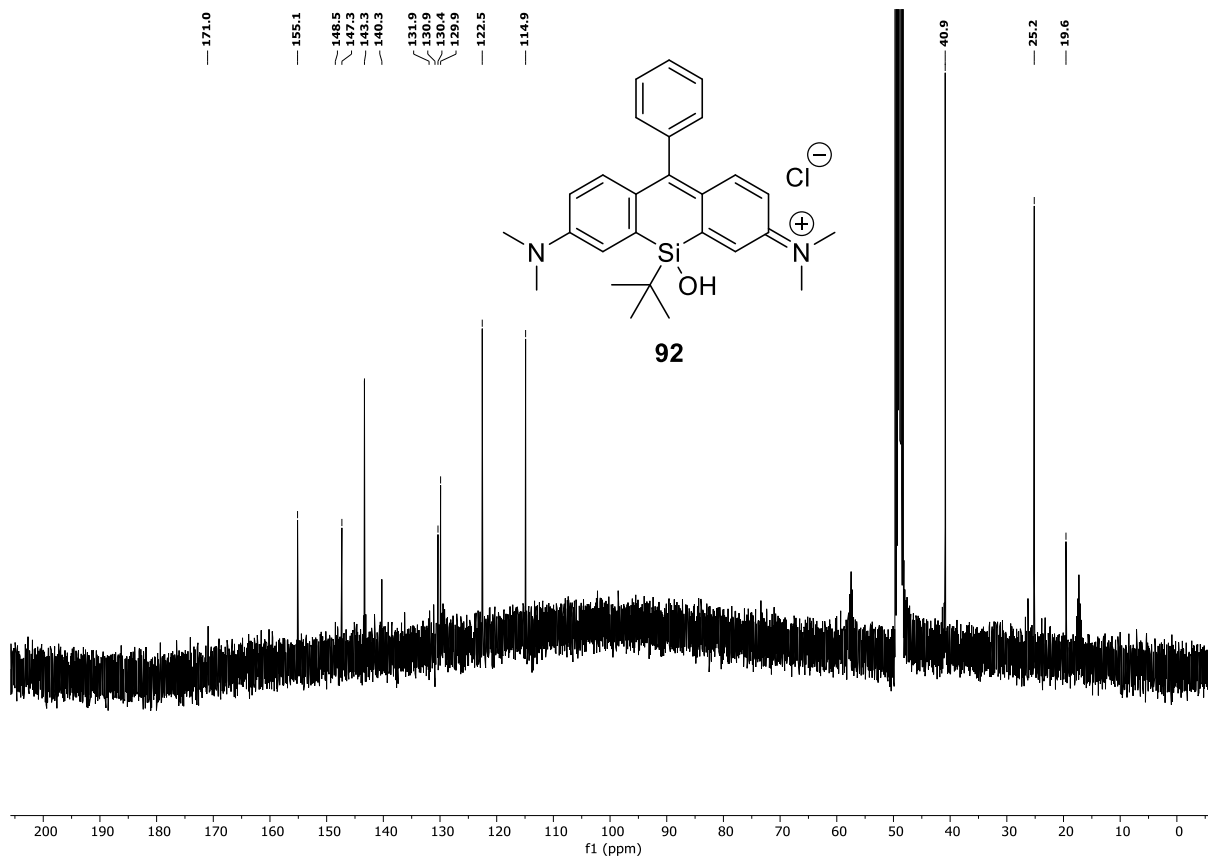
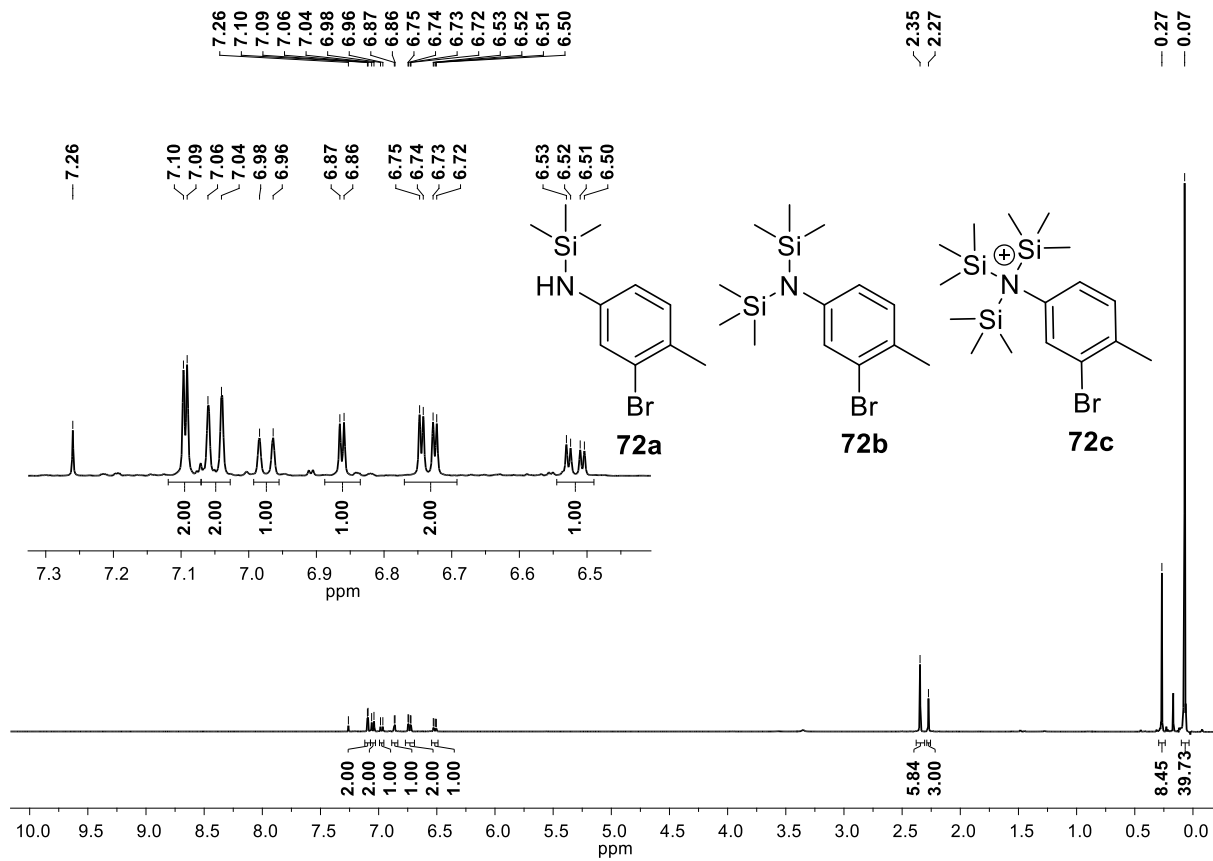
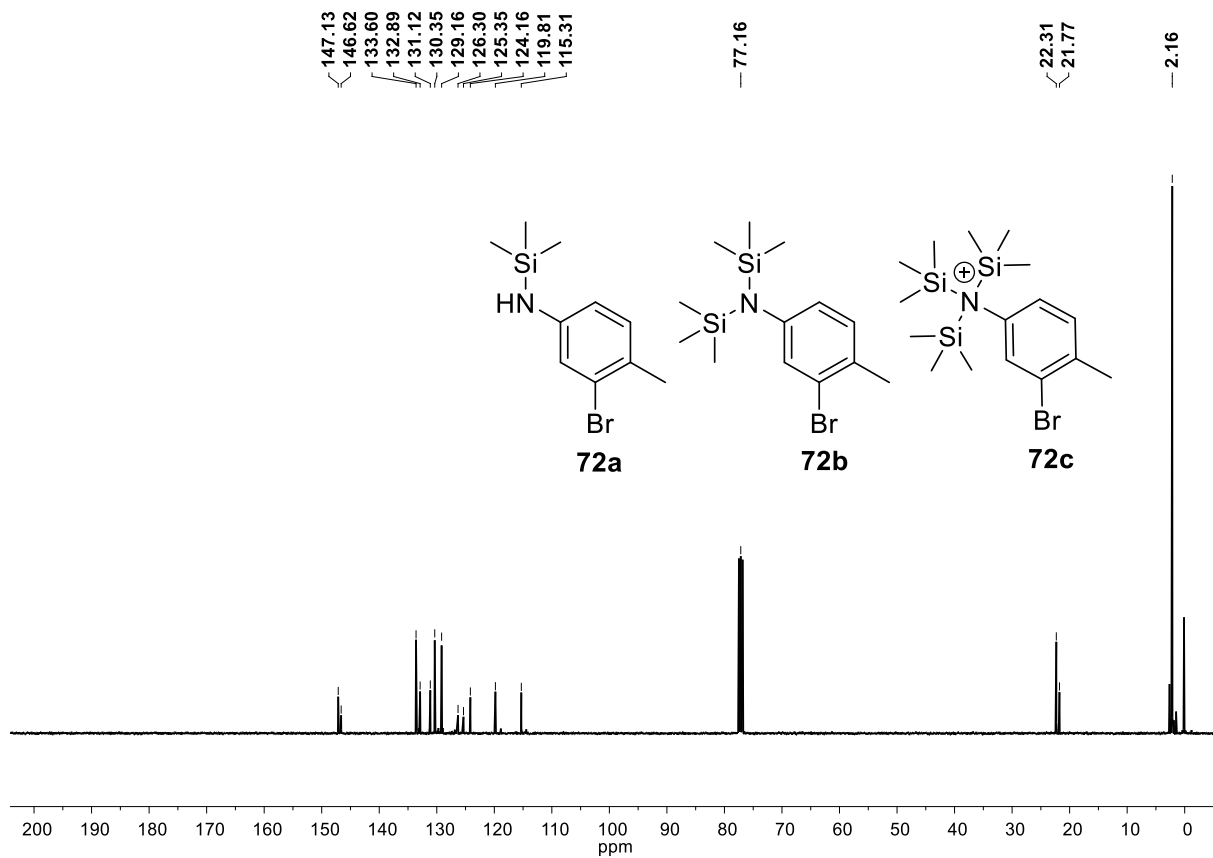


Abbildung 51: ^{13}C -NMR-Spektrum von **91** in Methanol- d_4 (101 MHz, 300 K).

Abbildung 52: ¹H-NMR-Spektrum von **92** in Methanol-*d*₄ (400 MHz, 300 K).Abbildung 53: ¹³C-NMR-Spektrum von **92** in Methanol-*d*₄ (101 MHz, 300 K).

Abbildung 54: ^1H -NMR-Spektrum von **72** in Chloroform-*d* (400 MHz, 300 K).Abbildung 55: ^{13}C -NMR-Spektrum von **72** in Chloroform-*d* (101 MHz, 300 K).

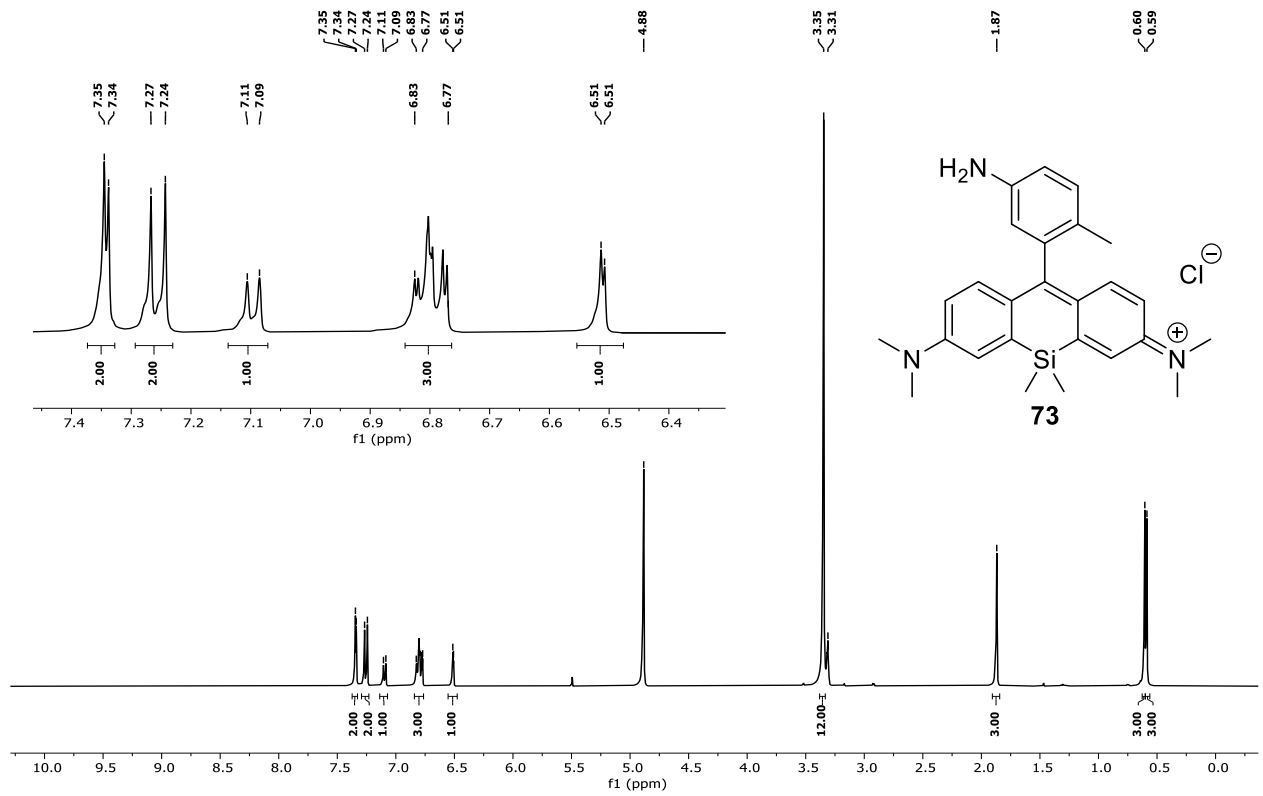


Abbildung 56: 1H -NMR-Spektrum von **73** in Methanol- d_4 (600 MHz, 300 K).

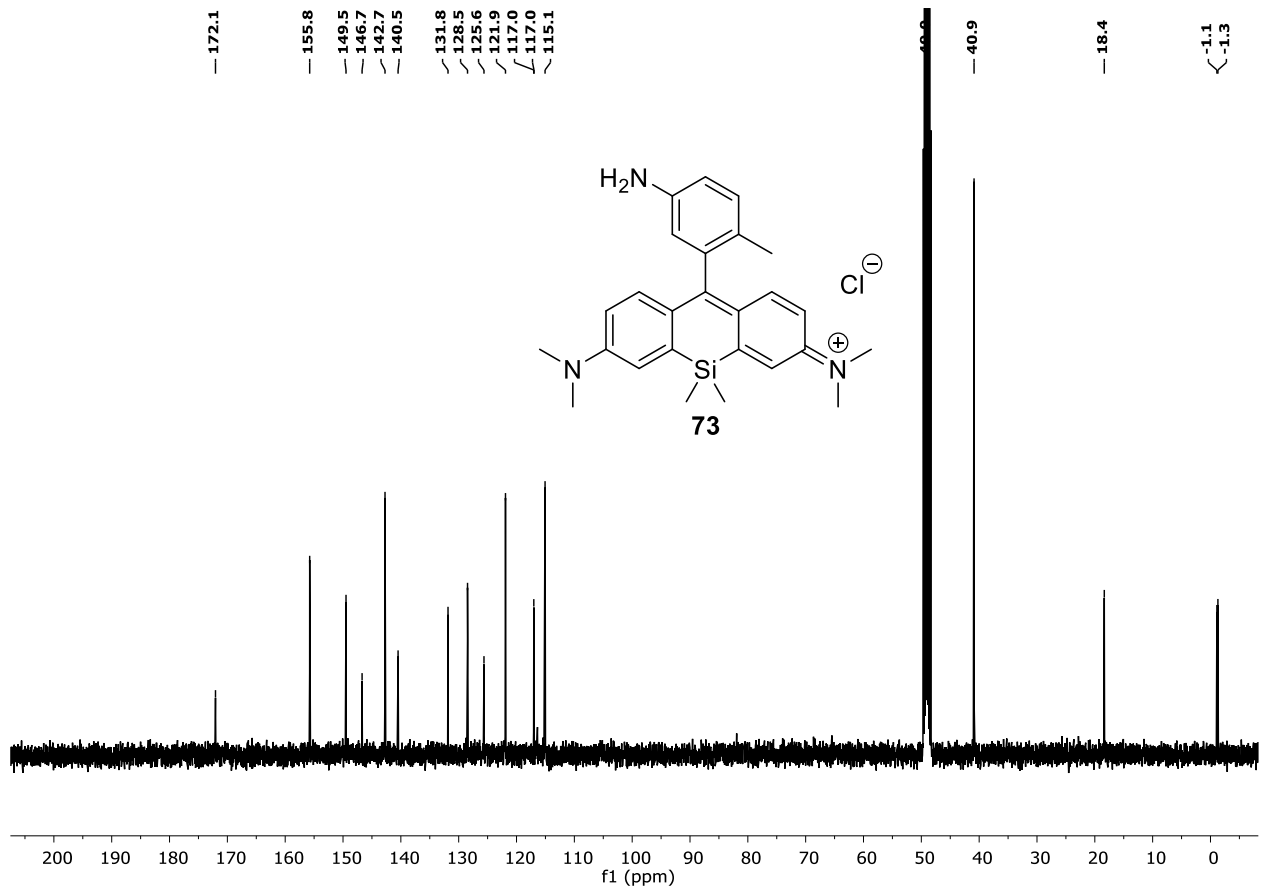
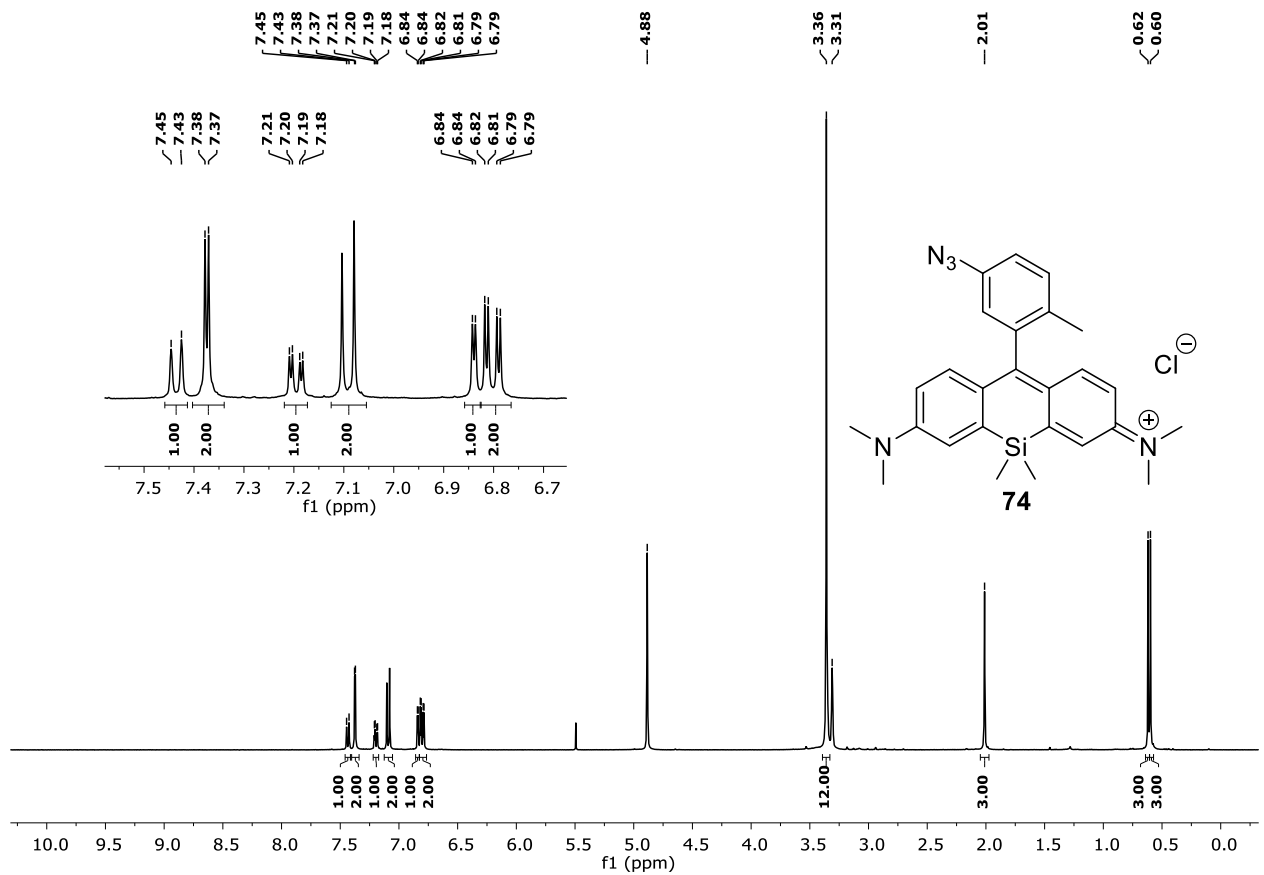
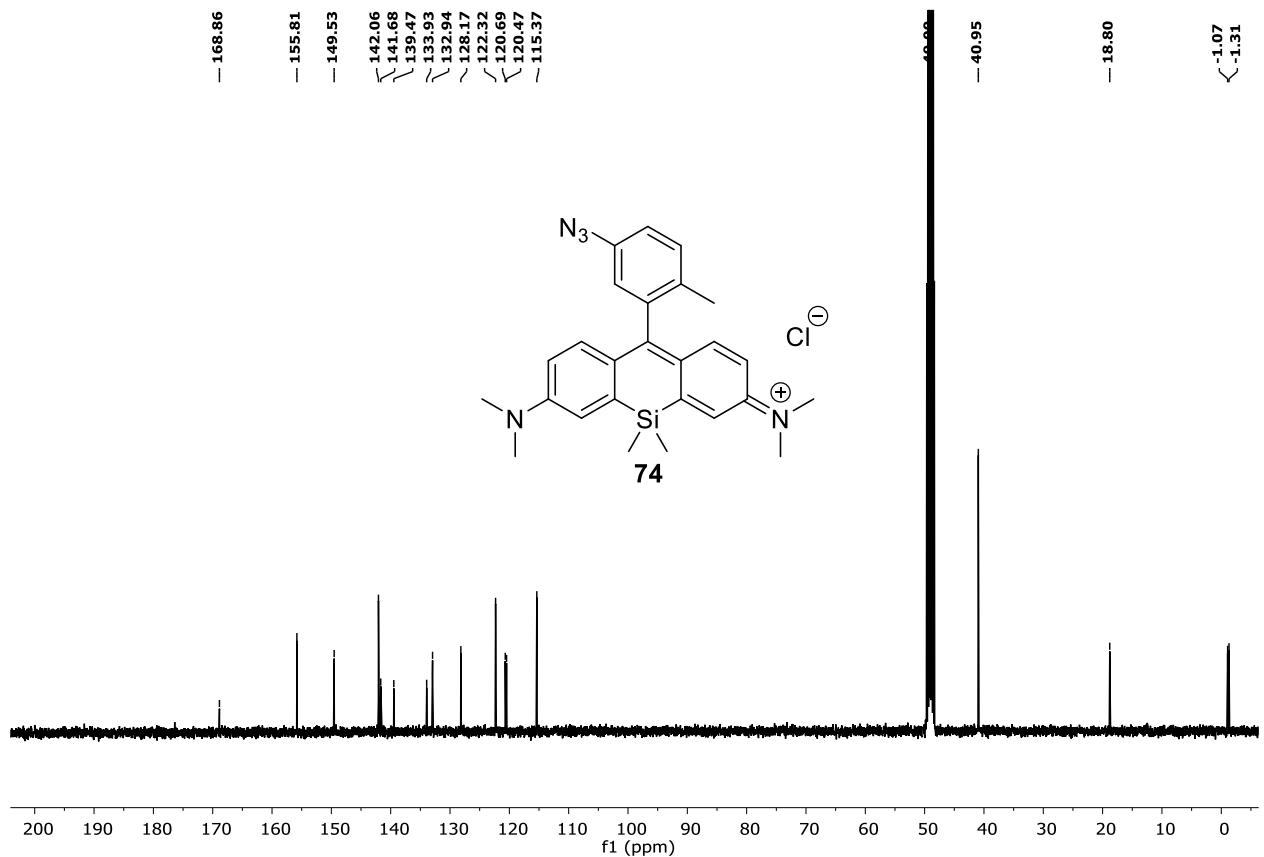
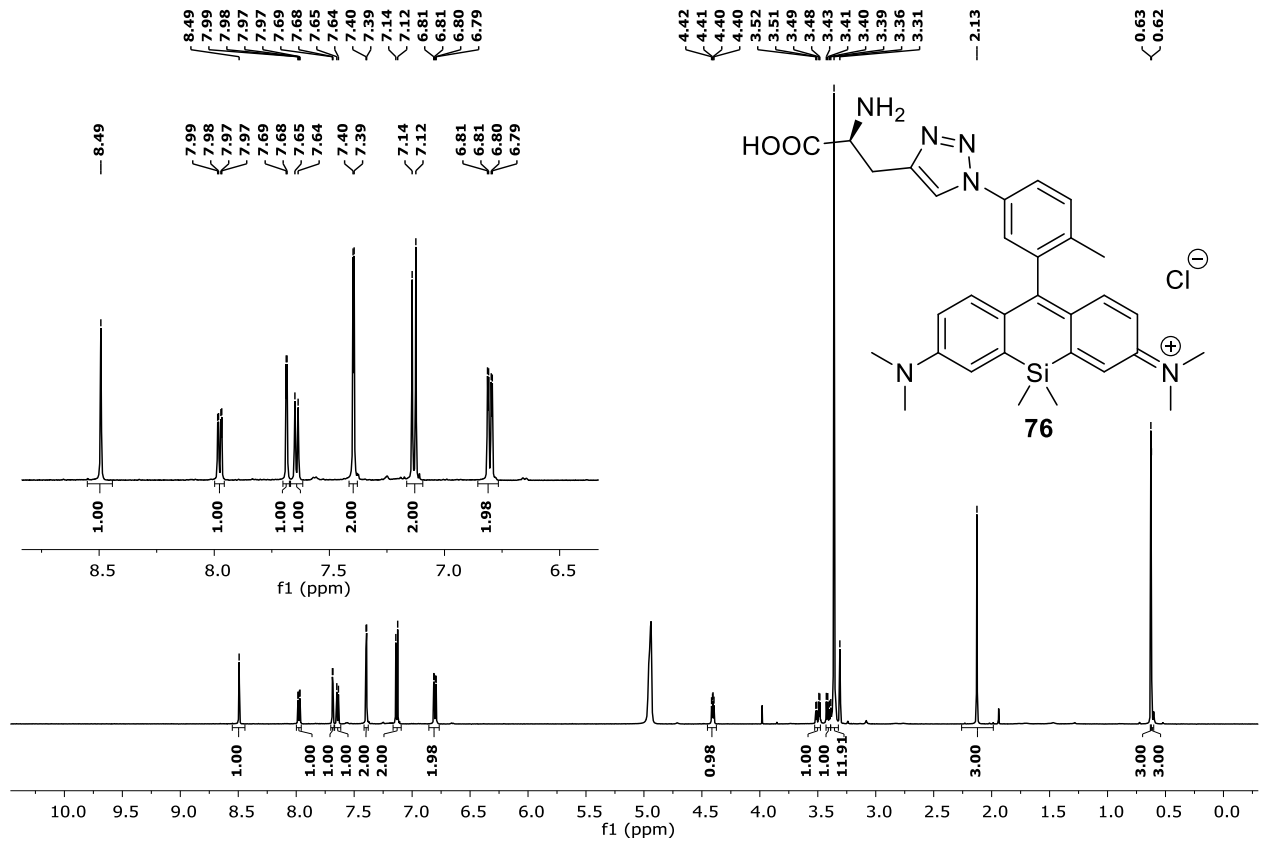
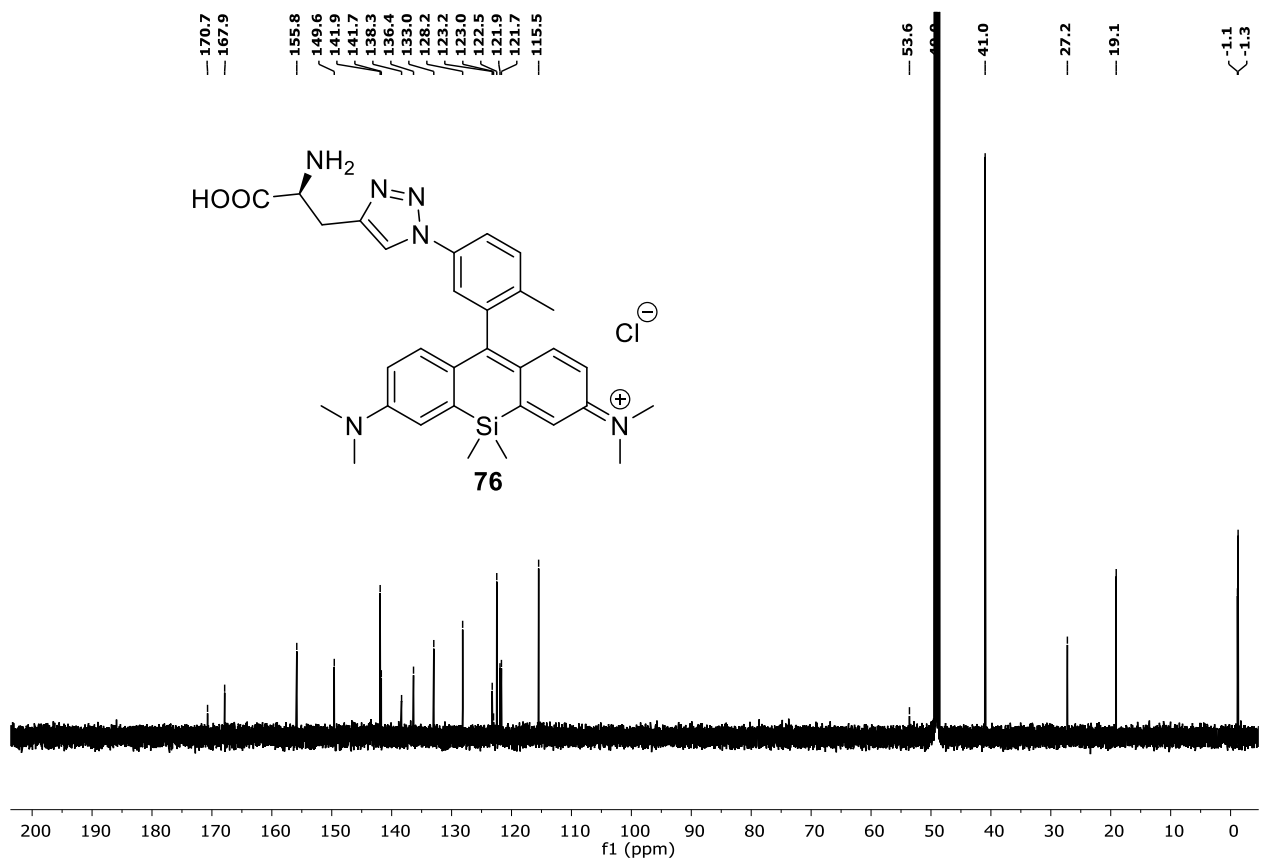
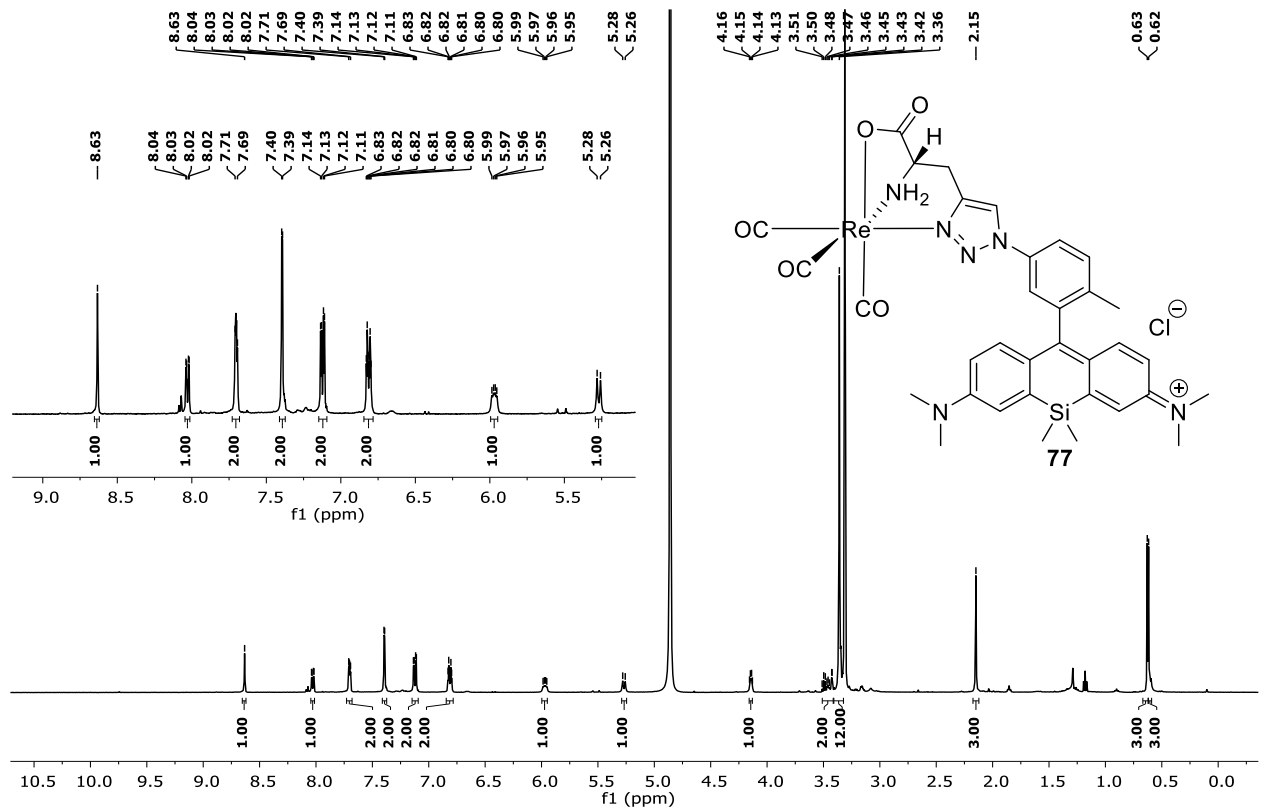
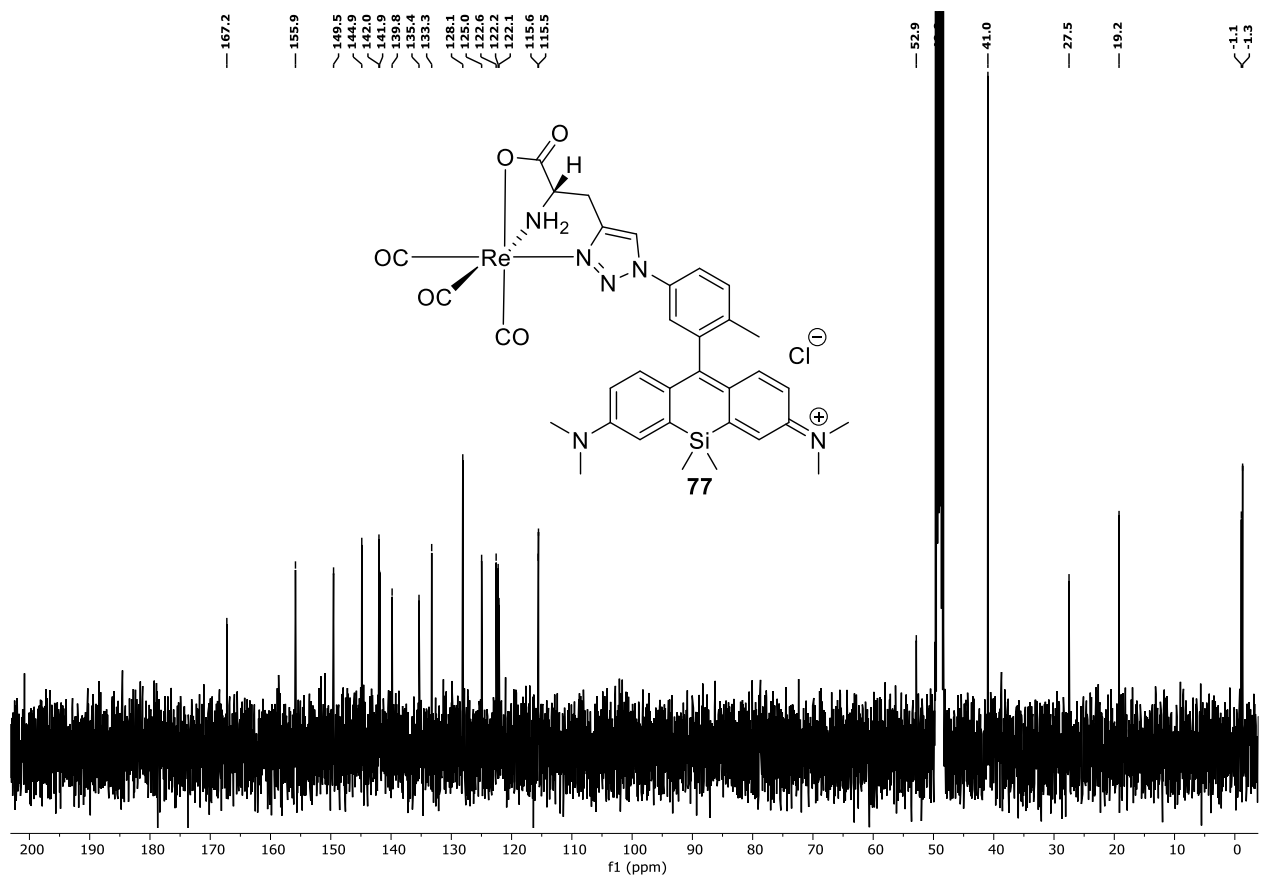


Abbildung 57: ^{13}C -NMR-Spektrum von **73** in Methanol- d_4 (101 MHz, 300 K).

Abbildung 58: ^1H -NMR-Spektrum von **74** in Methanol- d_4 (600 MHz, 300 K).Abbildung 59: ^{13}C -NMR-Spektrum von **74** in Methanol- d_4 (101 MHz, 300 K).

Abbildung 60: ¹H-NMR-Spektrum von **76** in Methanol- d_4 (600 MHz, 300 K).Abbildung 61: ¹³C-NMR-Spektrum von **76** in Methanol- d_4 (151 MHz, 300 K).

Abbildung 62: ^1H -NMR-Spektrum von **77** in Methanol- d_4 (500 MHz, 300 K).Abbildung 63: ^{13}C -NMR-Spektrum von **77** in Methanol- d_4 (101 MHz, 300 K).

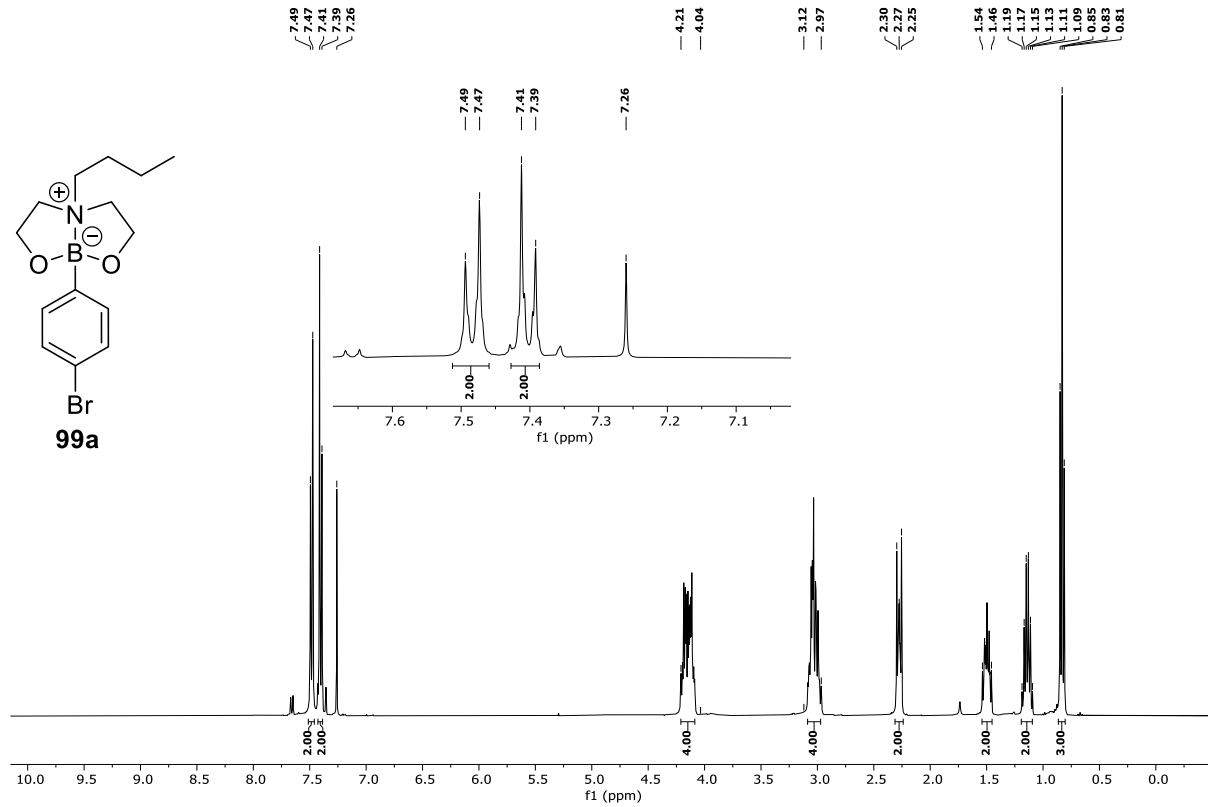


Abbildung 64: ^1H -NMR-Spektrum von **99a** in Chloroform-*d* (400 MHz, 300 K).

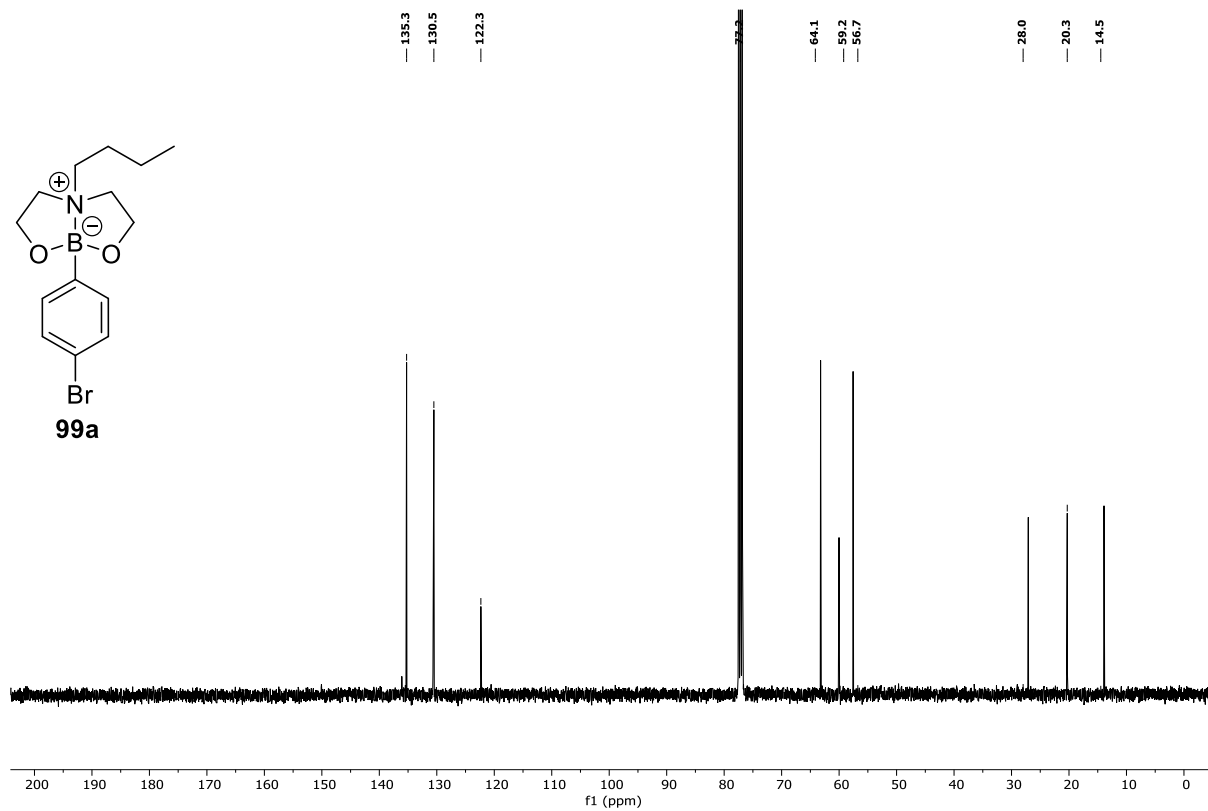
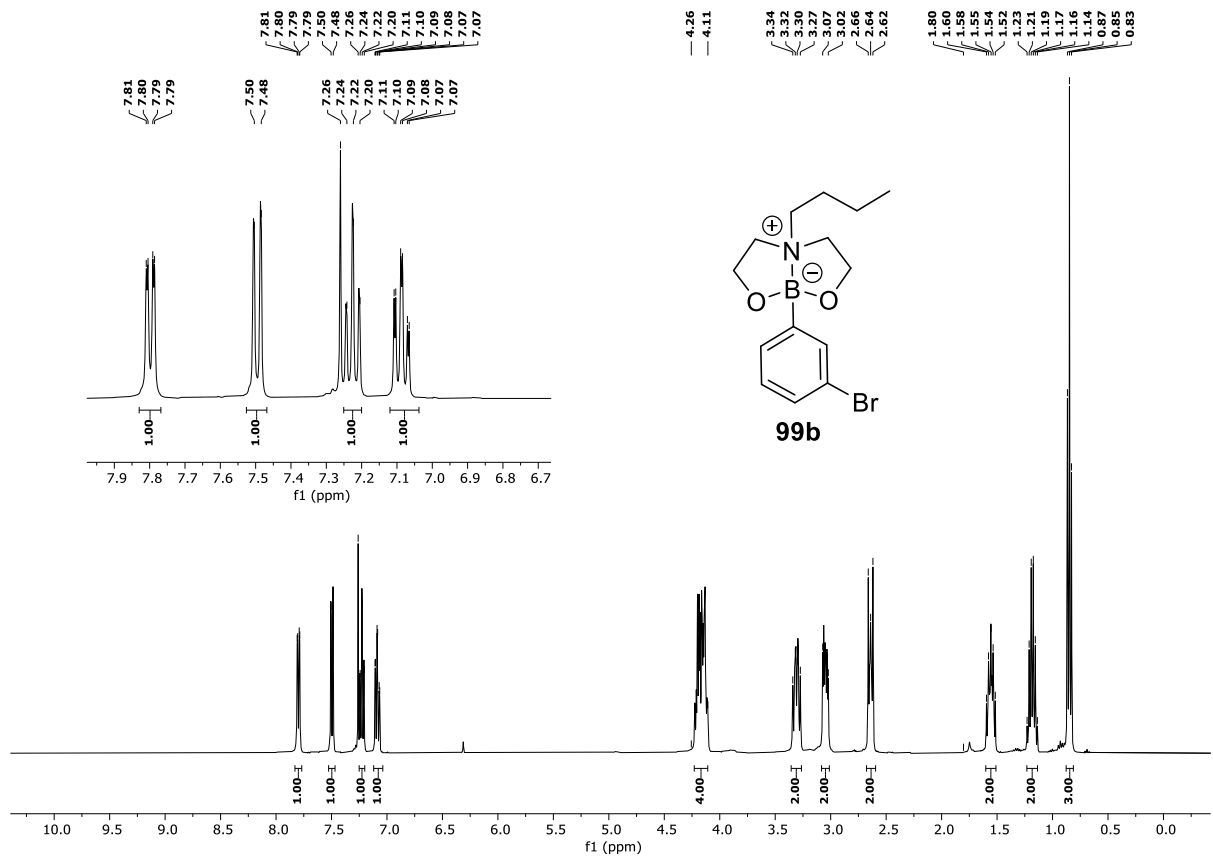
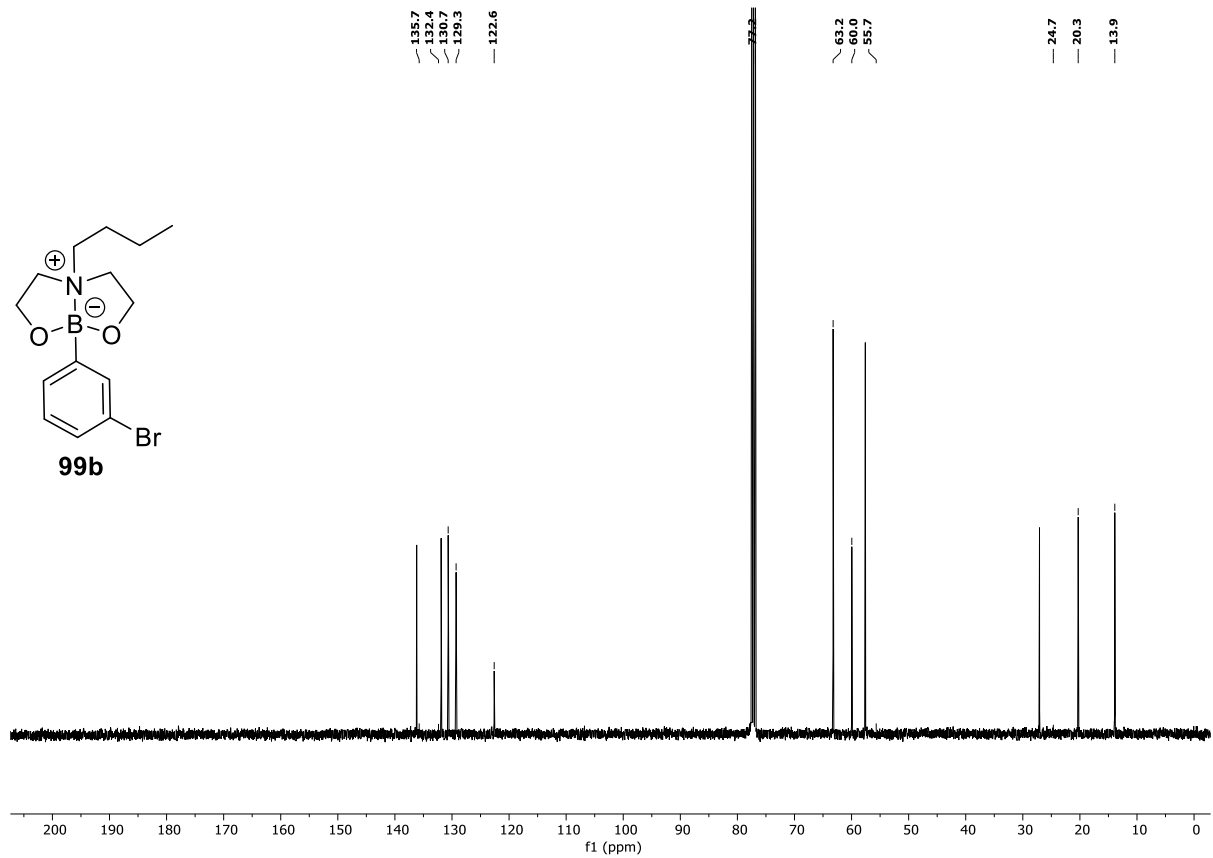
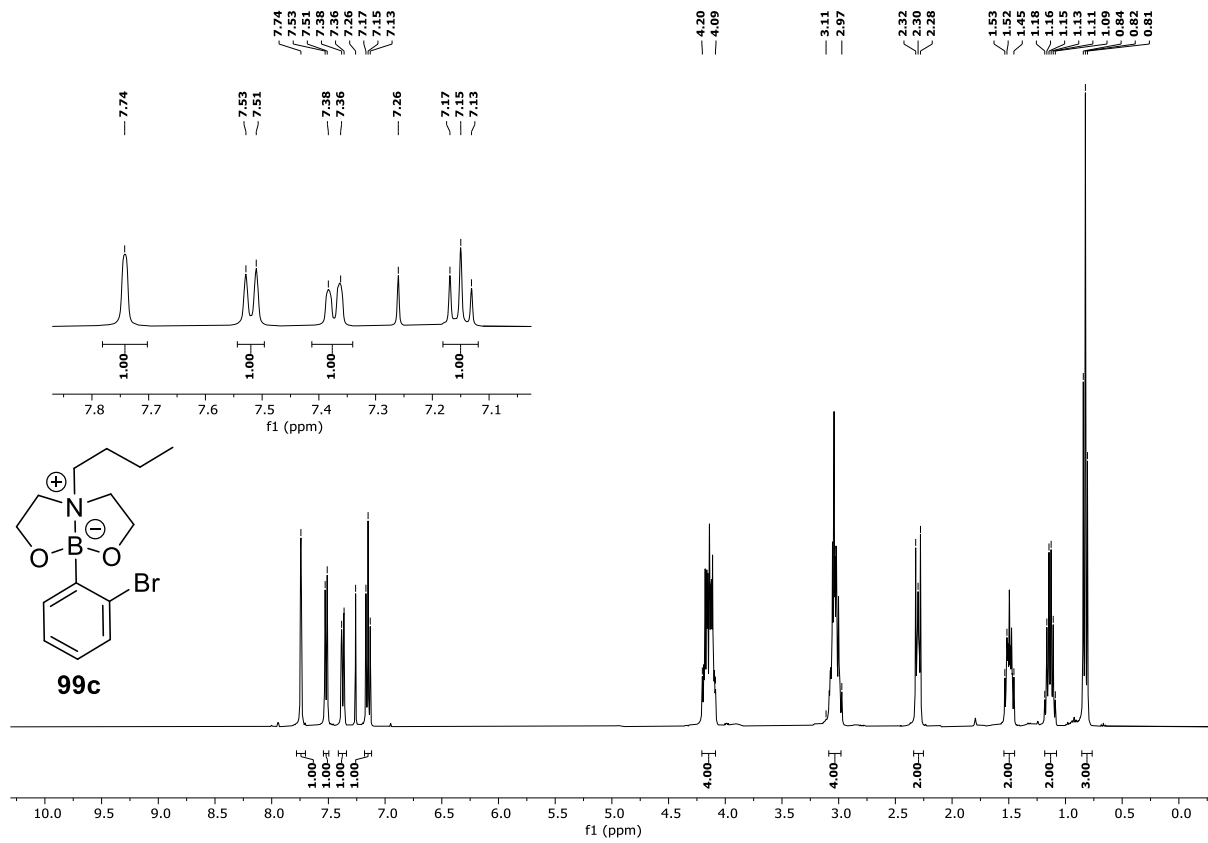
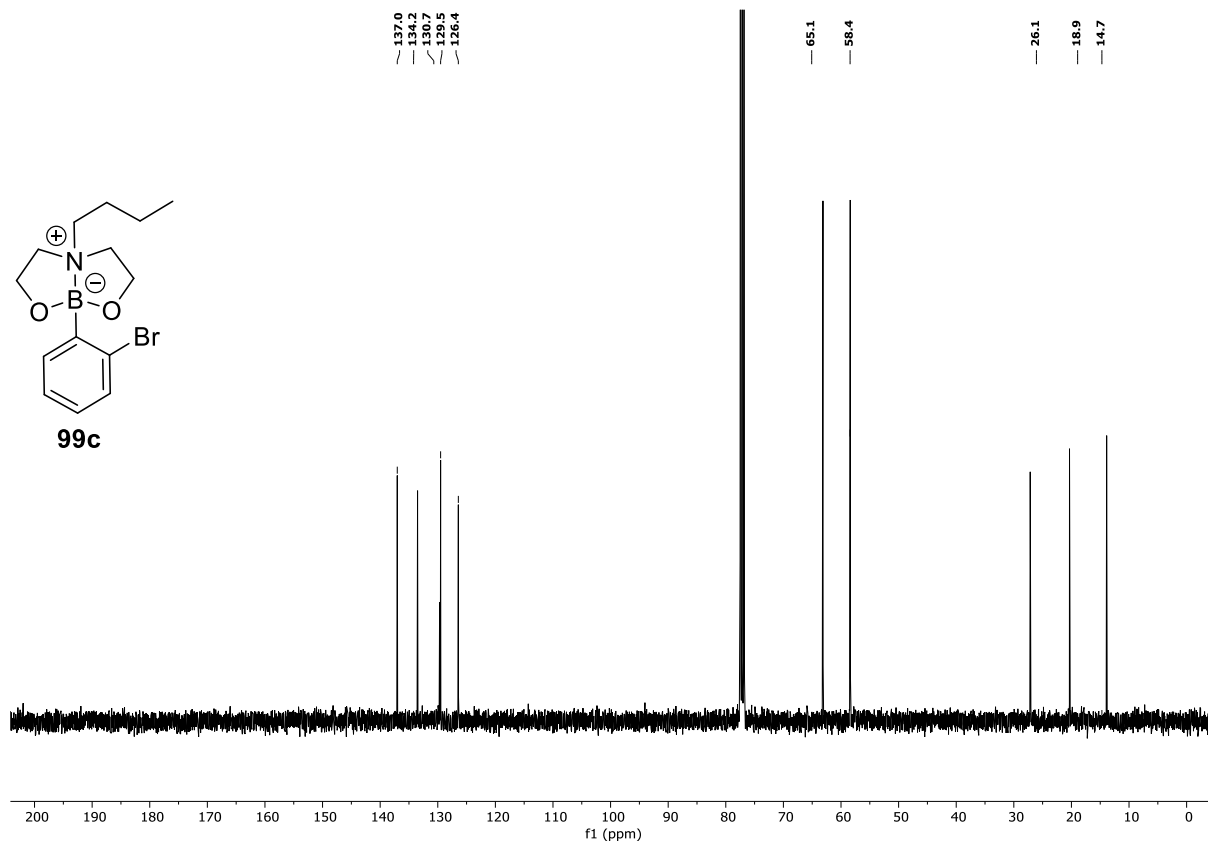


Abbildung 65: ^{13}C -NMR-Spektrum von **99a** in Chloroform-*d* (101 MHz, 300 K).

Abbildung 66: ¹H-NMR-Spektrum von **99b** in Chloroform-*d* (400 MHz, 300 K).Abbildung 67: ¹³C-NMR-Spektrum von **99b** in Chloroform-*d* (101 MHz, 300 K).

Abbildung 68: ¹H-NMR-Spektrum von **99c** in Chloroform-*d* (400 MHz, 300 K).Abbildung 69: ¹³C-NMR-Spektrum von **99c** in Chloroform-*d* (101 MHz, 300 K).

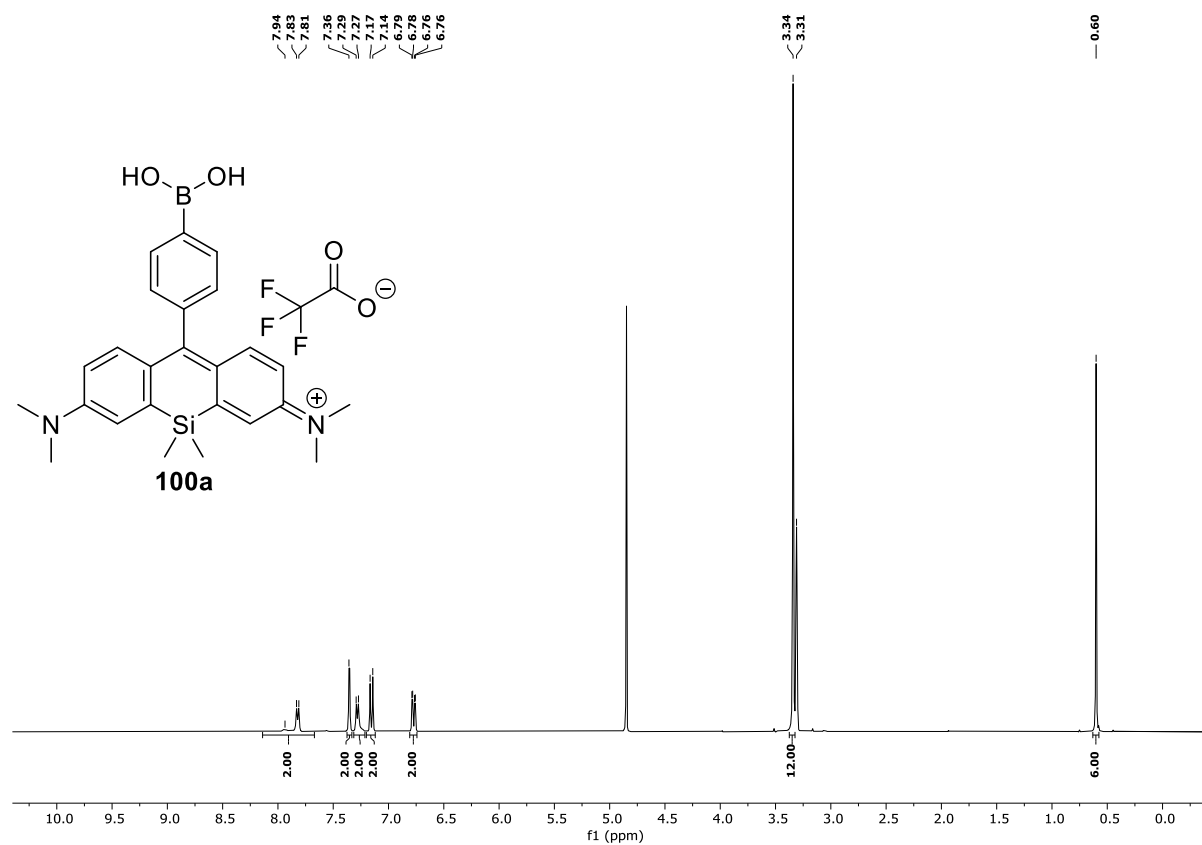


Abbildung 70: ^1H -NMR-Spektrum von **100a** in Methanol- d_4 (400 MHz, 300 K).

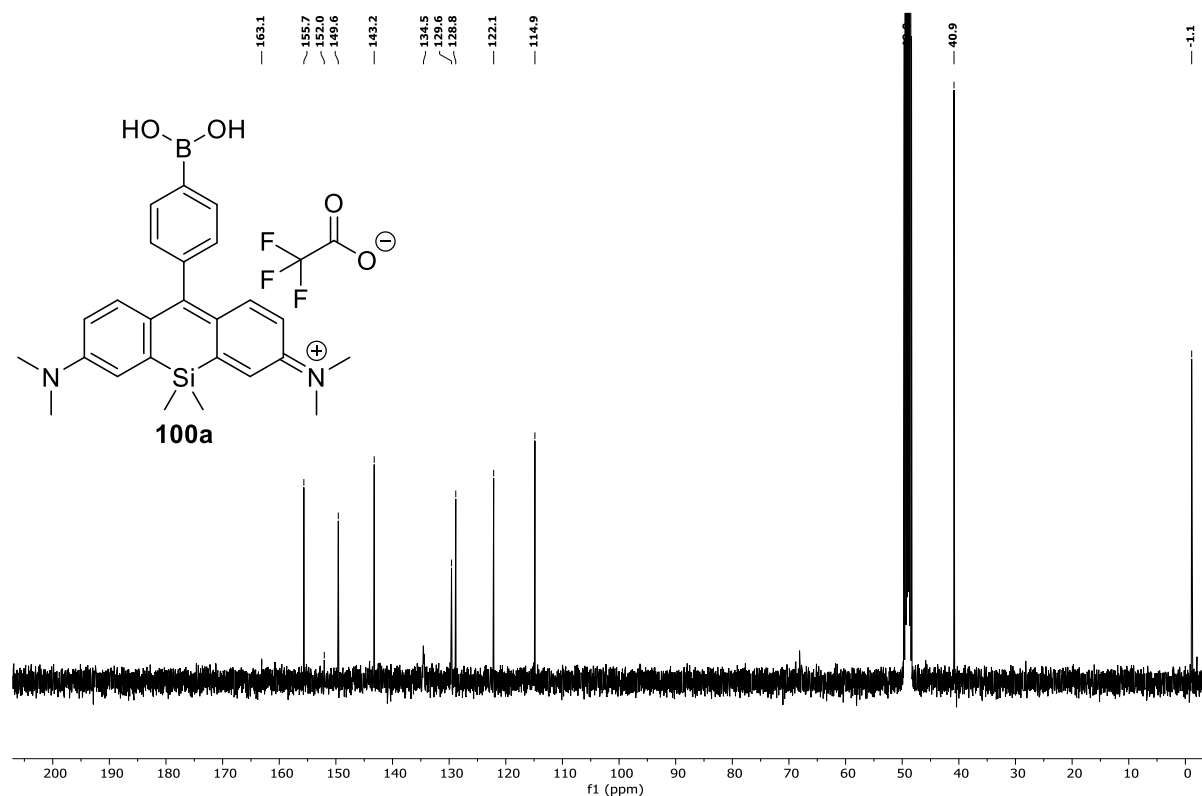


Abbildung 71: ^{13}C -NMR-Spektrum von **100a** in Methanol- d_4 (101 MHz, 300 K).

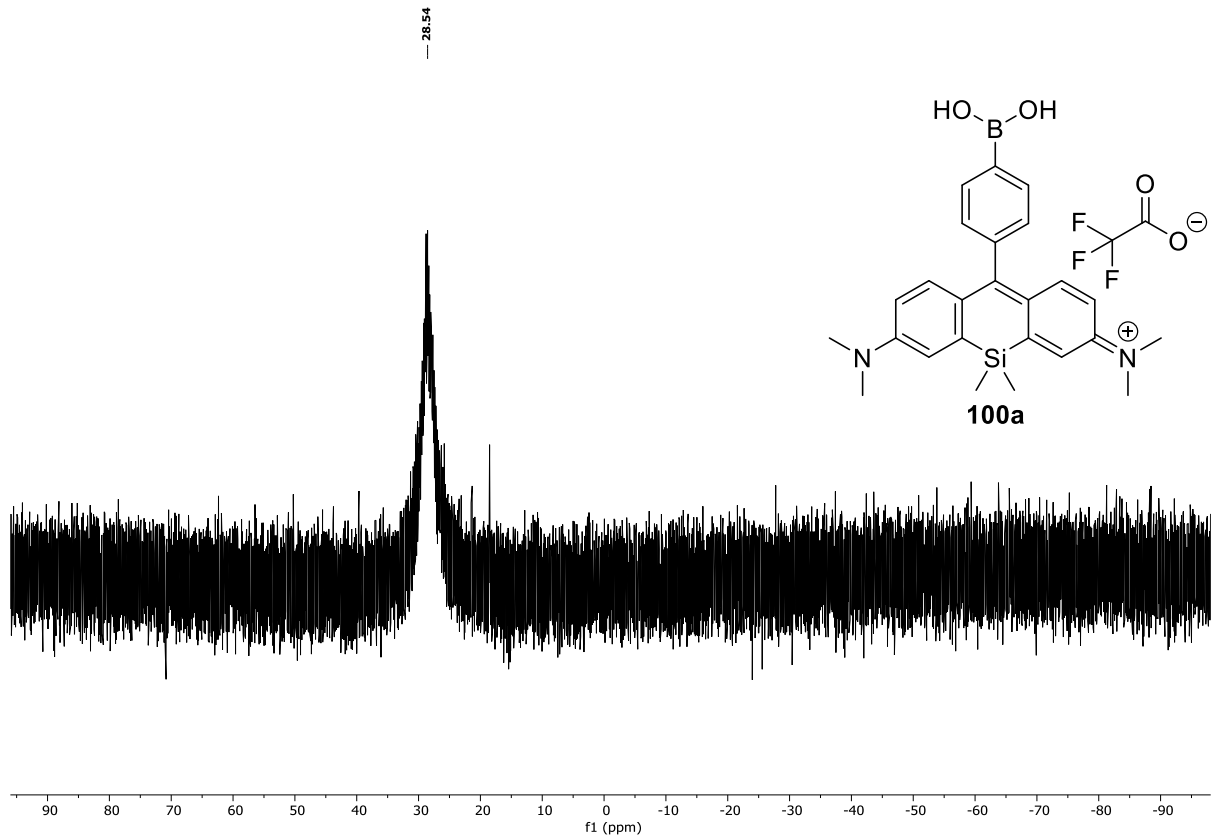


Abbildung 72: ^{11}B -NMR-Spektrum of **100a** in Methanol- d_4 (192 MHz, 300 K).

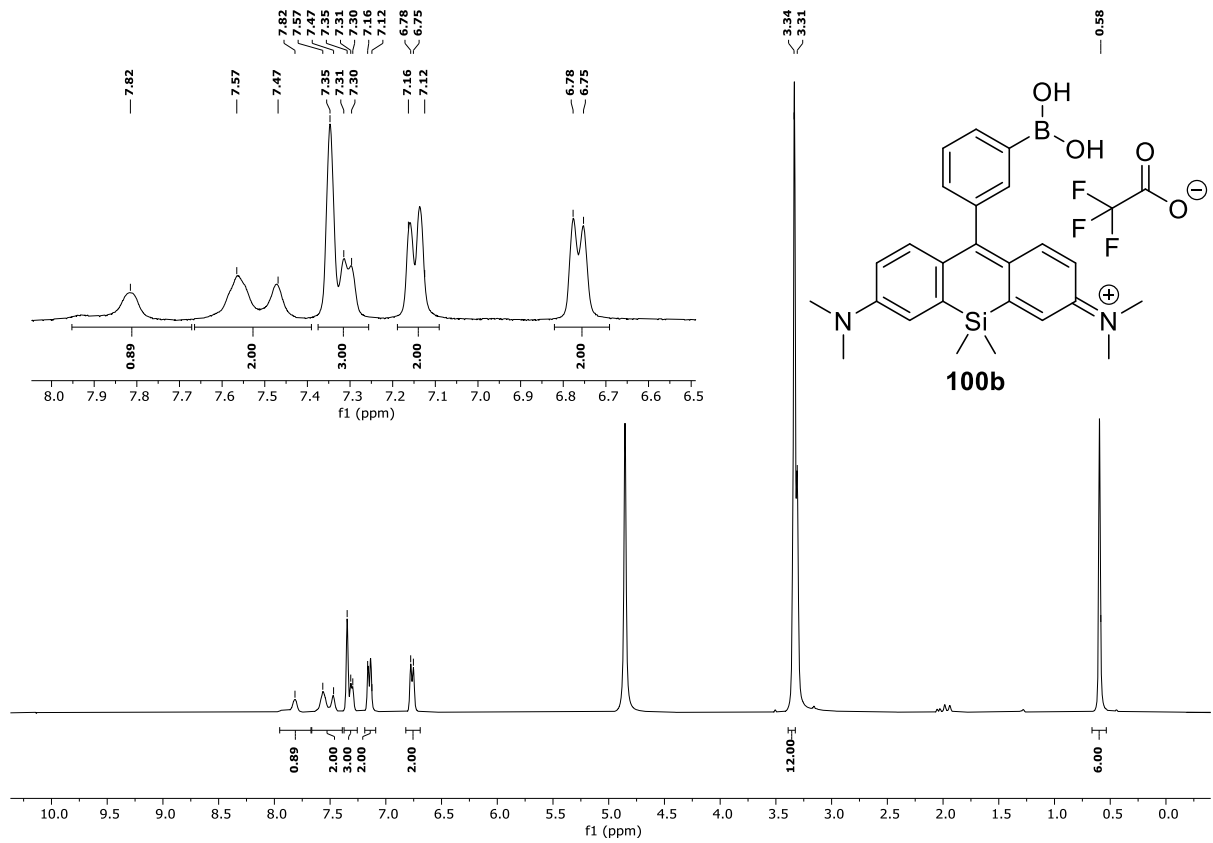


Abbildung 73: ^1H -NMR-Spektrum von **100b** in Methanol- d_4 (400 MHz, 300 K).

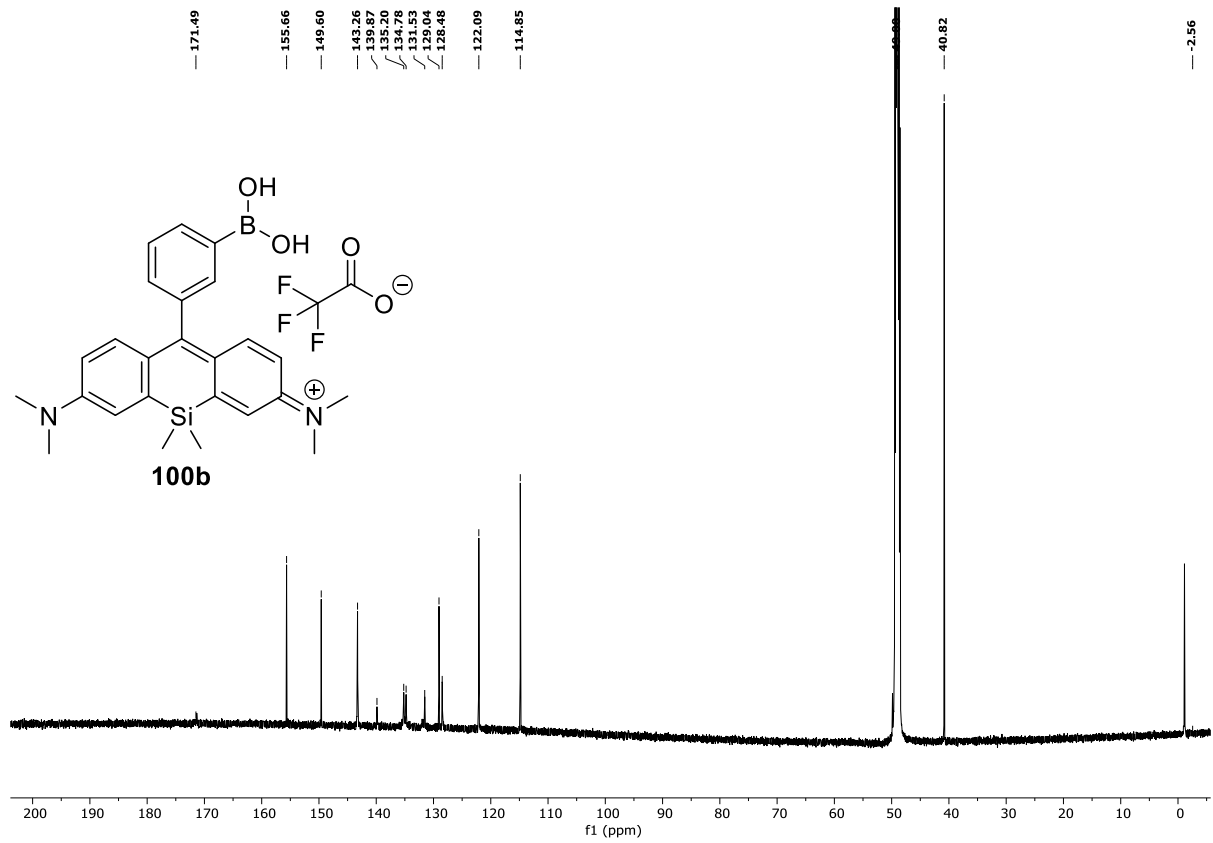


Abbildung 74: ^{13}C -NMR-Spektrum von **100b** in Methanol- d_4 (151 MHz, 300 K).

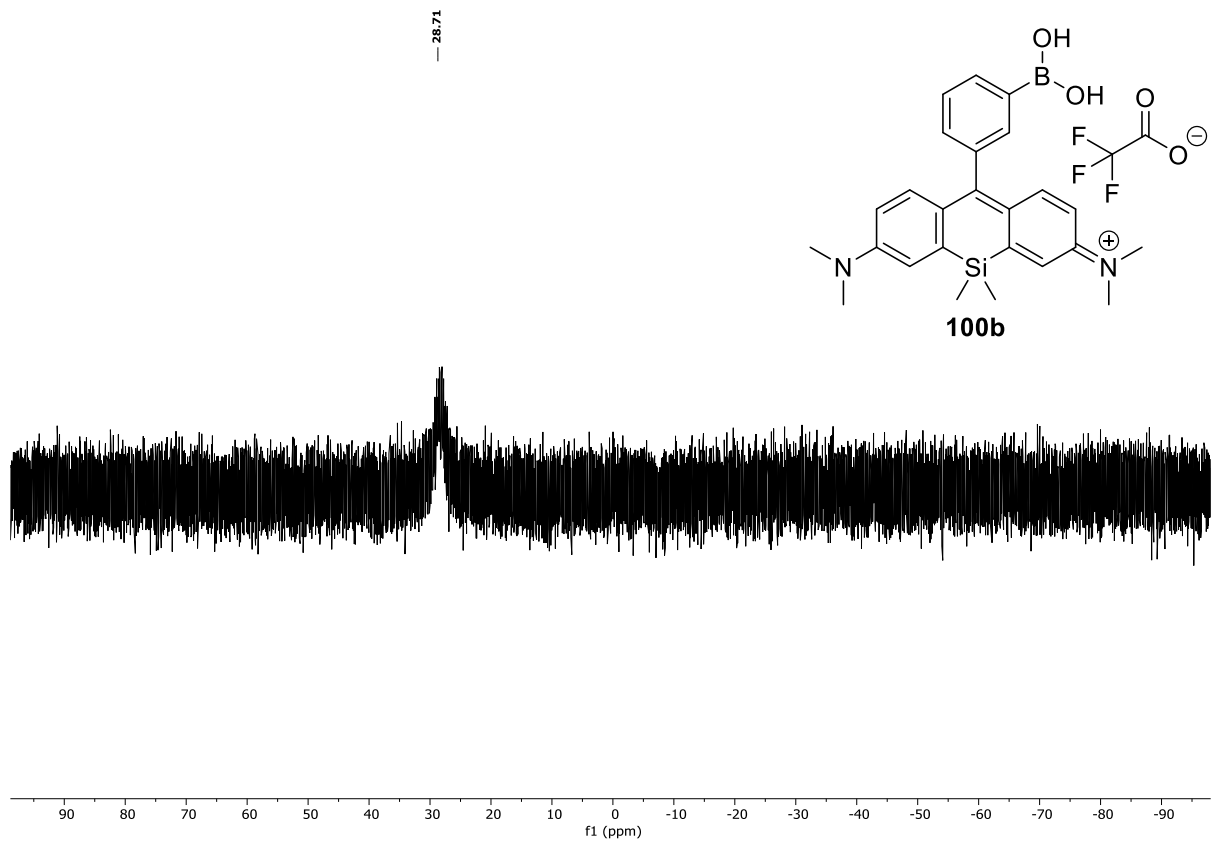


Abbildung 75: ^{11}B -NMR-Spektrum von **100b** in Methanol- d_4 (192 MHz, 300 K).

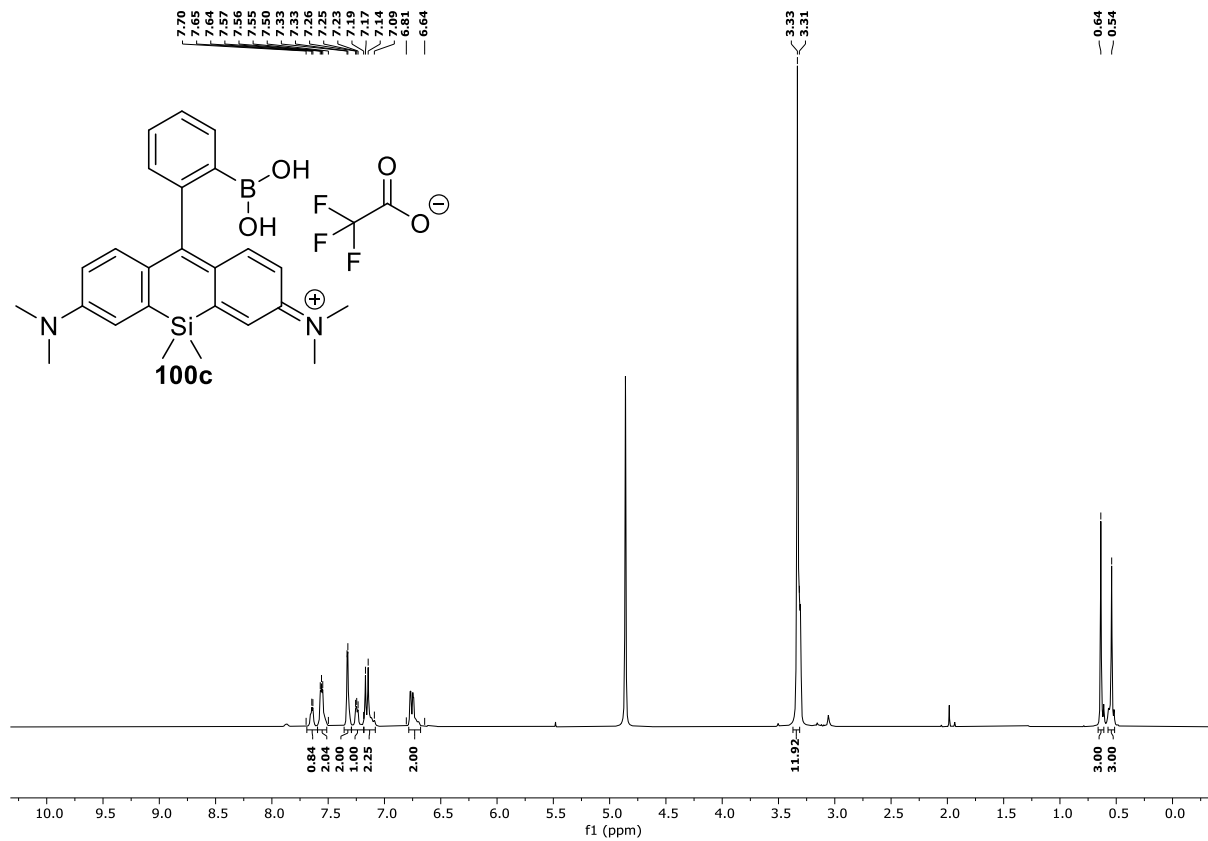


Abbildung 76: ^1H -NMR-Spektrum von **100c** in Methanol- d_4 (400 MHz, 300 K).

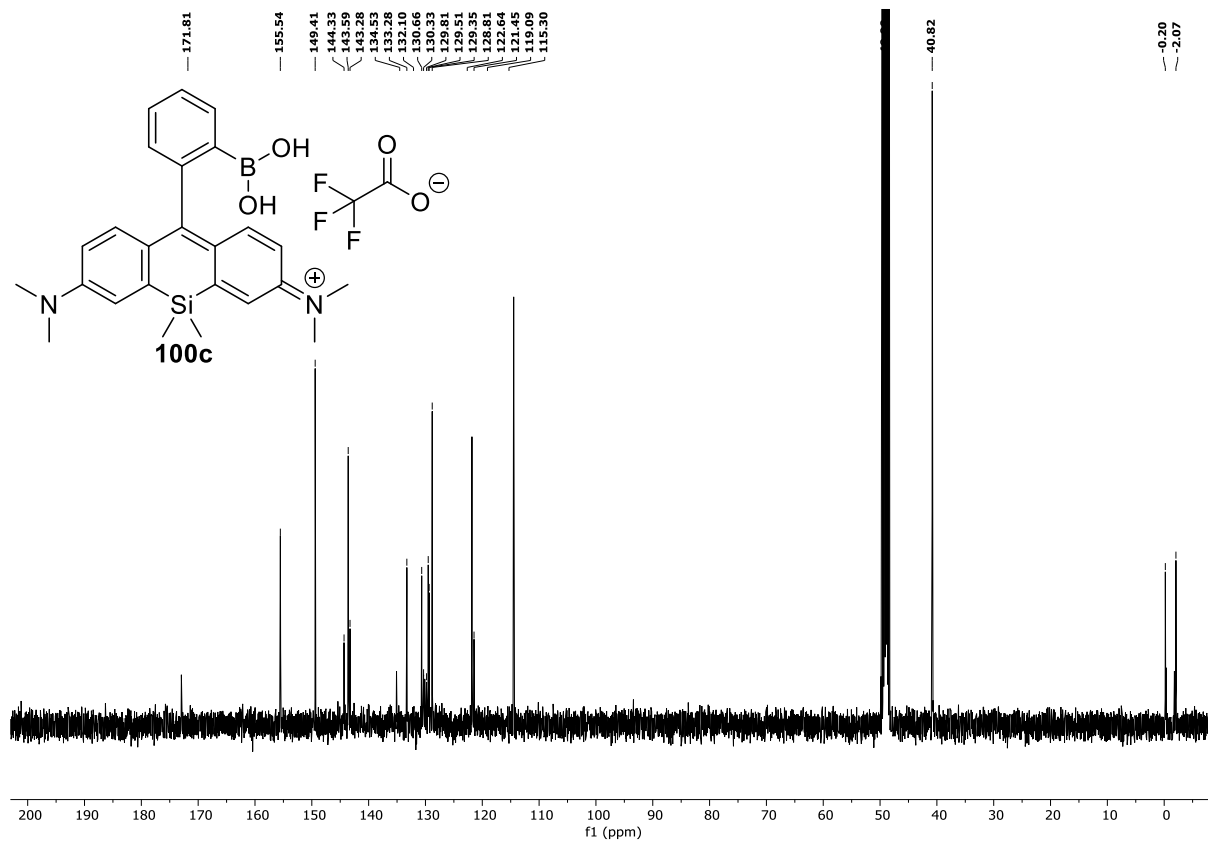


Abbildung 77: ^{13}C -NMR-Spektrum von **100c** in Methanol- d_4 (101 MHz, 300 K).

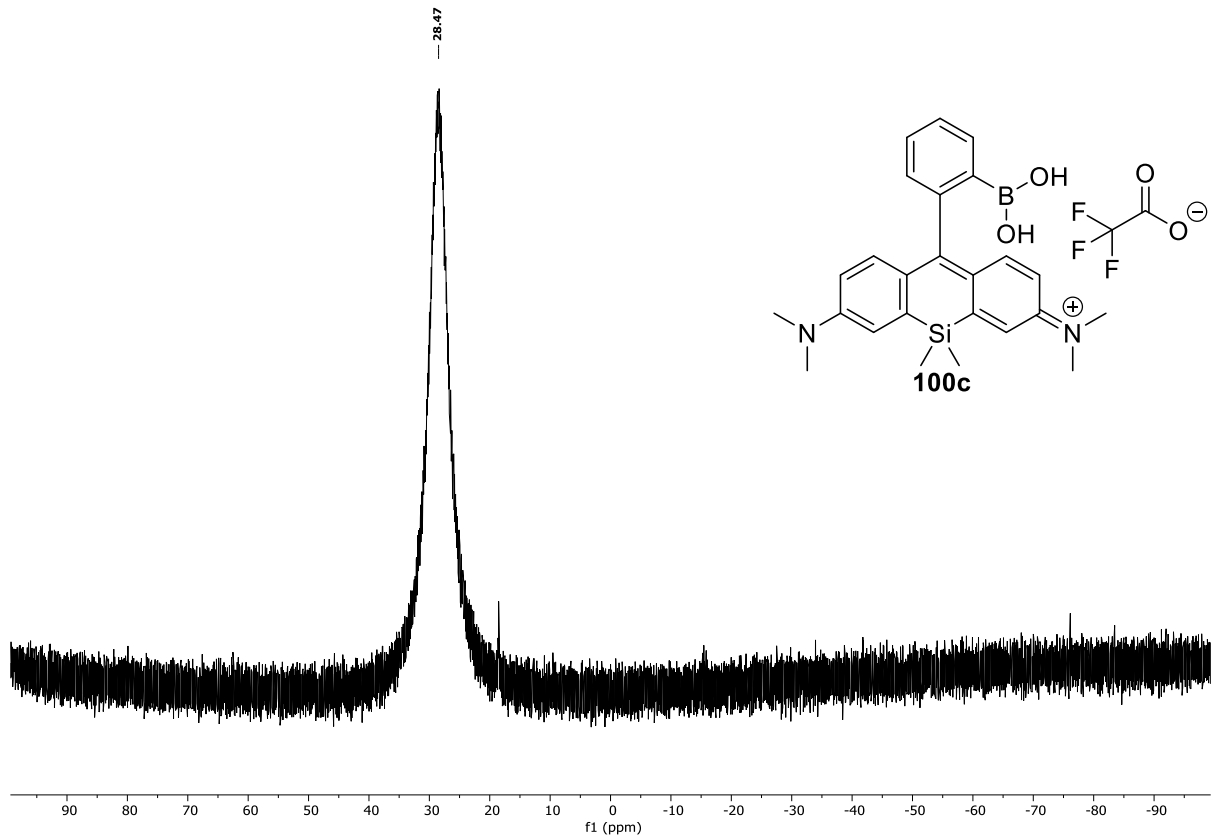


Abbildung 78: ^{11}B -NMR-Spektrum von **100c** in Methanol- d_4 (192 MHz, 300 K).

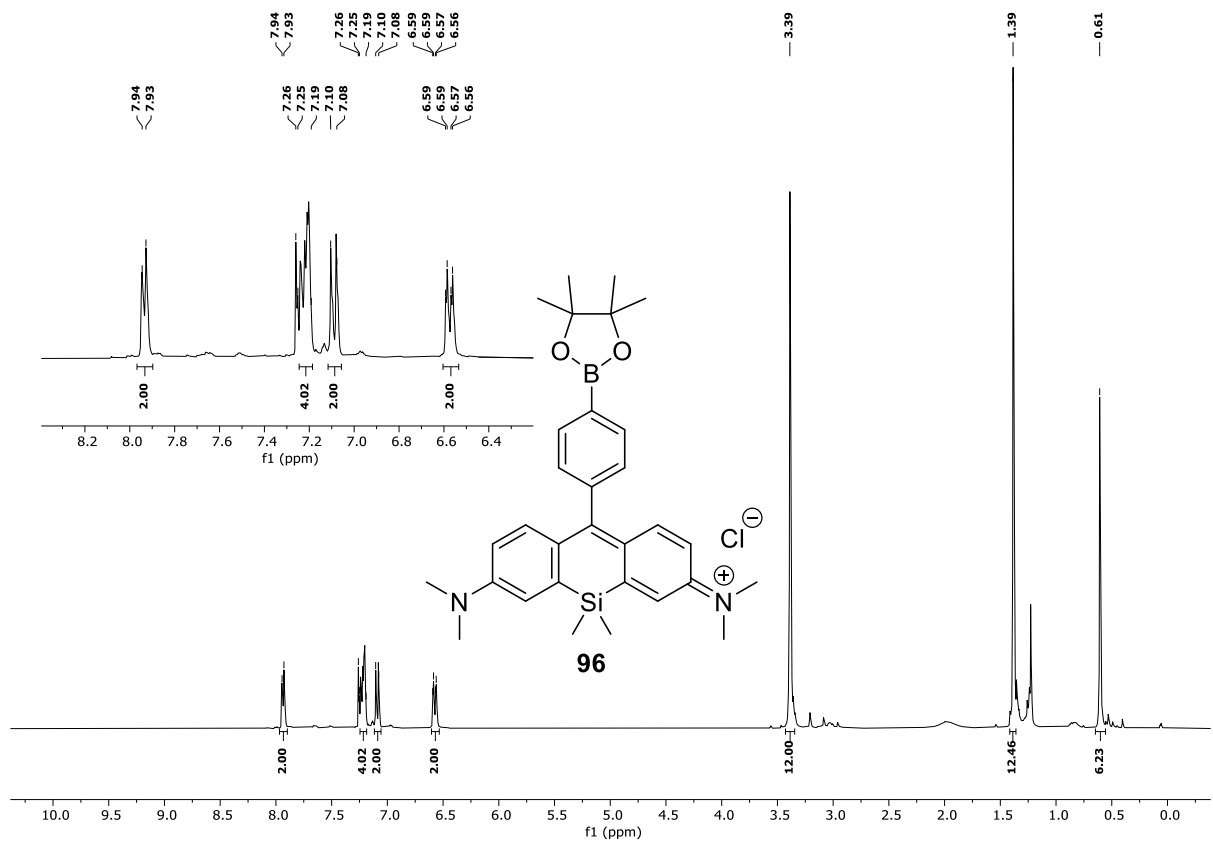


Abbildung 79: ^1H -NMR-Spektrum von **96** in Chloroform- d (400 MHz, 300 K).

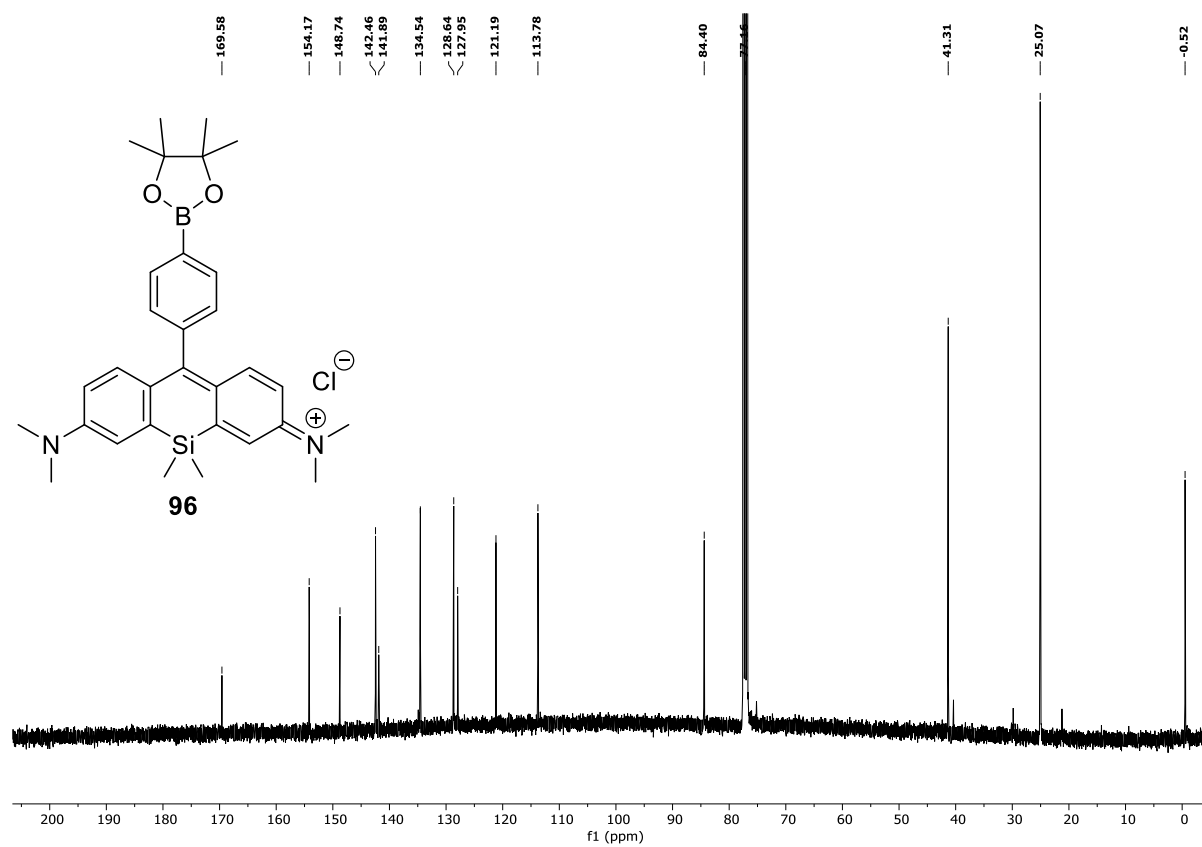


Abbildung 80: ^{13}C -NMR-Spektrum von **96** in Chloroform-*d* (151 MHz, 300 K).

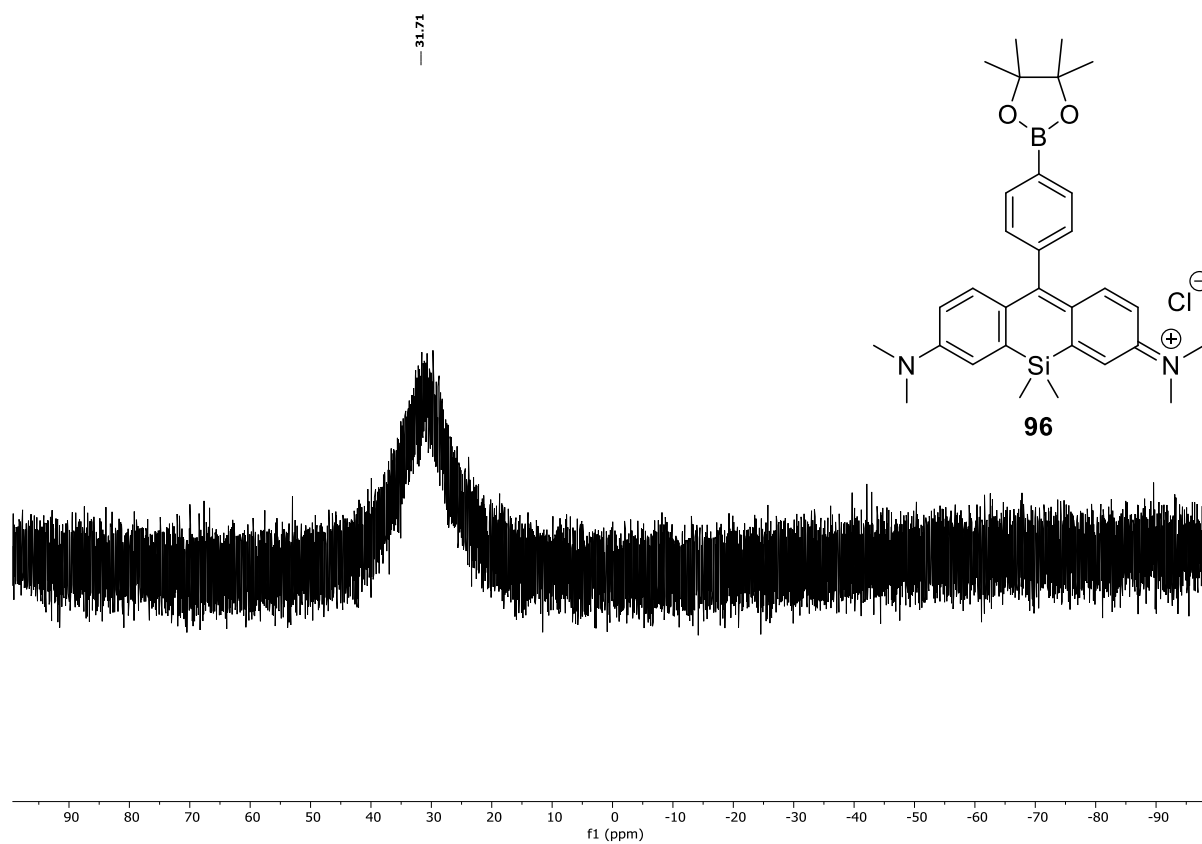


Abbildung 81: ^{11}B -NMR-Spektrum von **96** in Chloroform-*d* (128 MHz, 300 K).

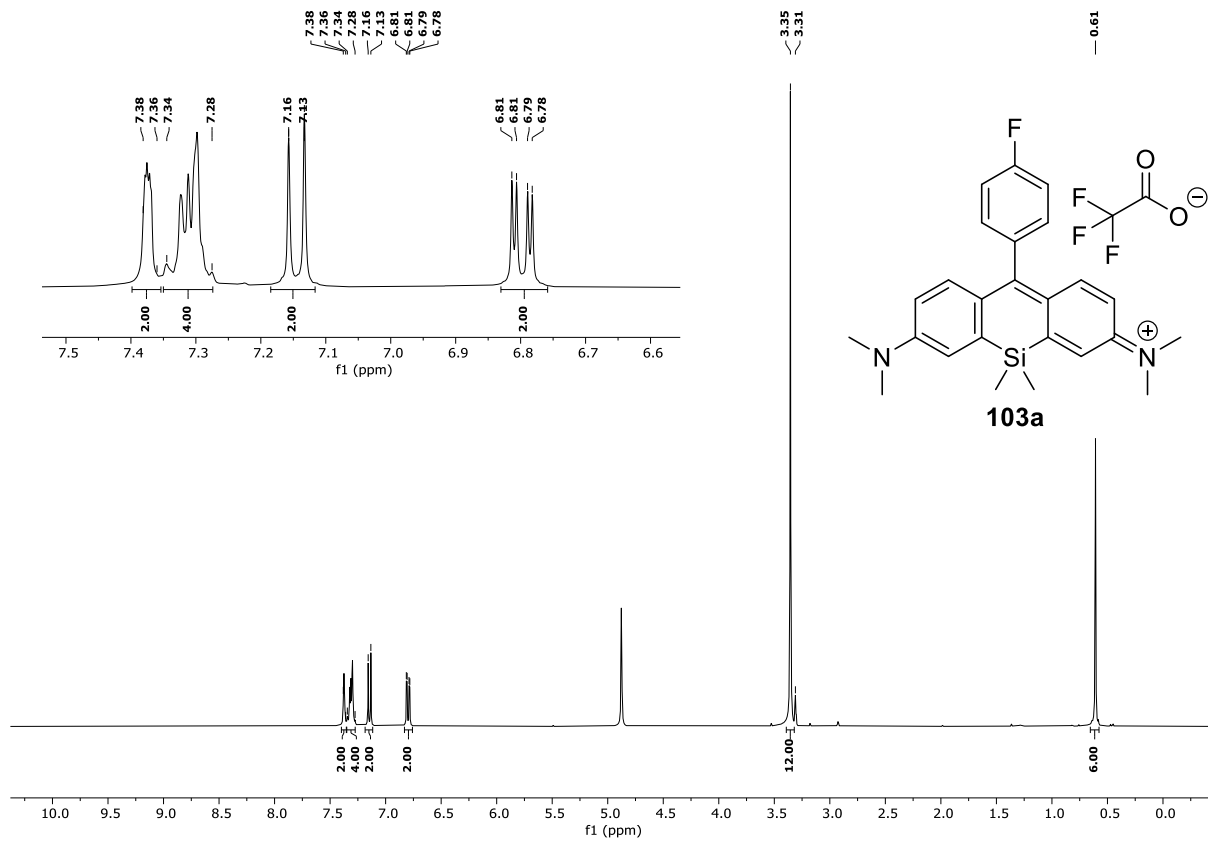


Abbildung 82: ¹H-NMR-Spektrum von **103a** in Methanol-*d*₄ (400 MHz, 300 K).

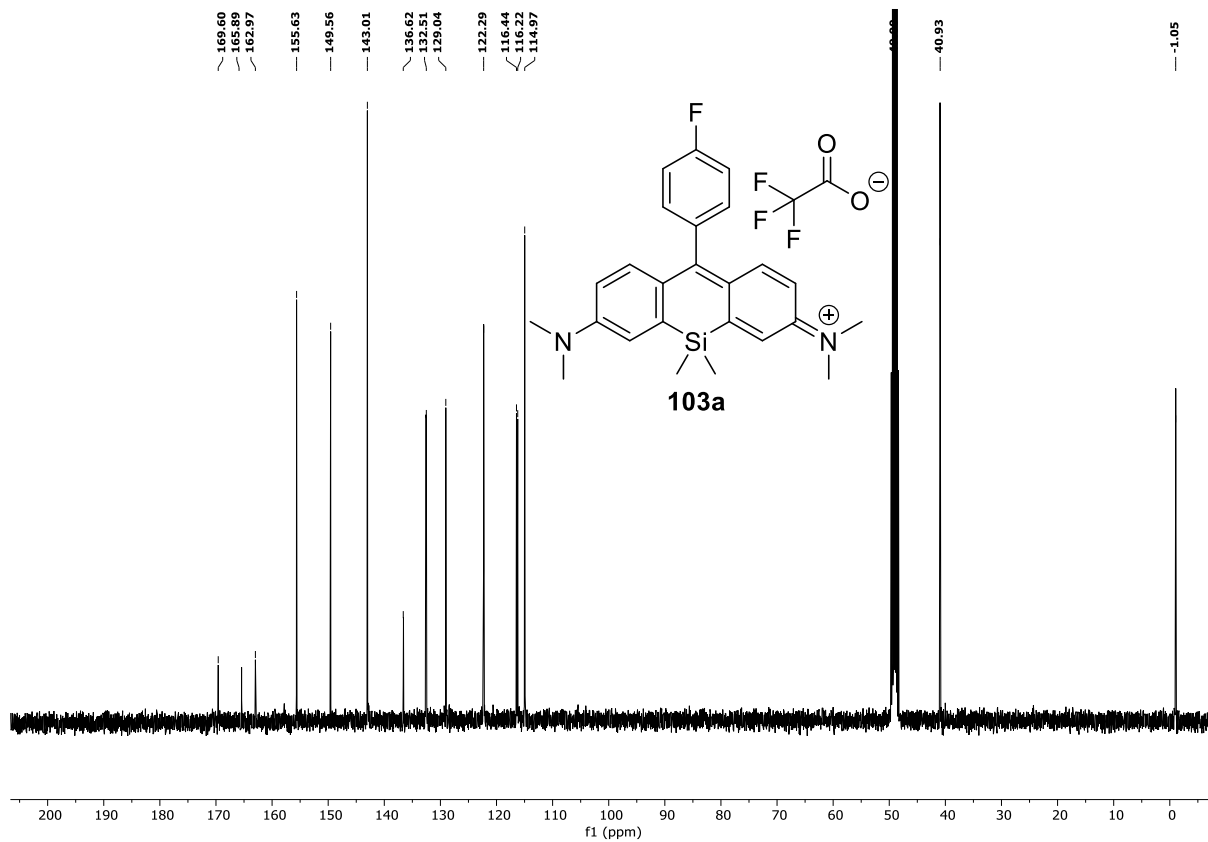


Abbildung 83: ¹³C-NMR-Spektrum von **103a** in Methanol-*d*₄ (101 MHz, 300 K).



Abbildung 84: ^{19}F -NMR-Spektrum von **103a** in Methanol- d_4 (376 MHz, 300 K).

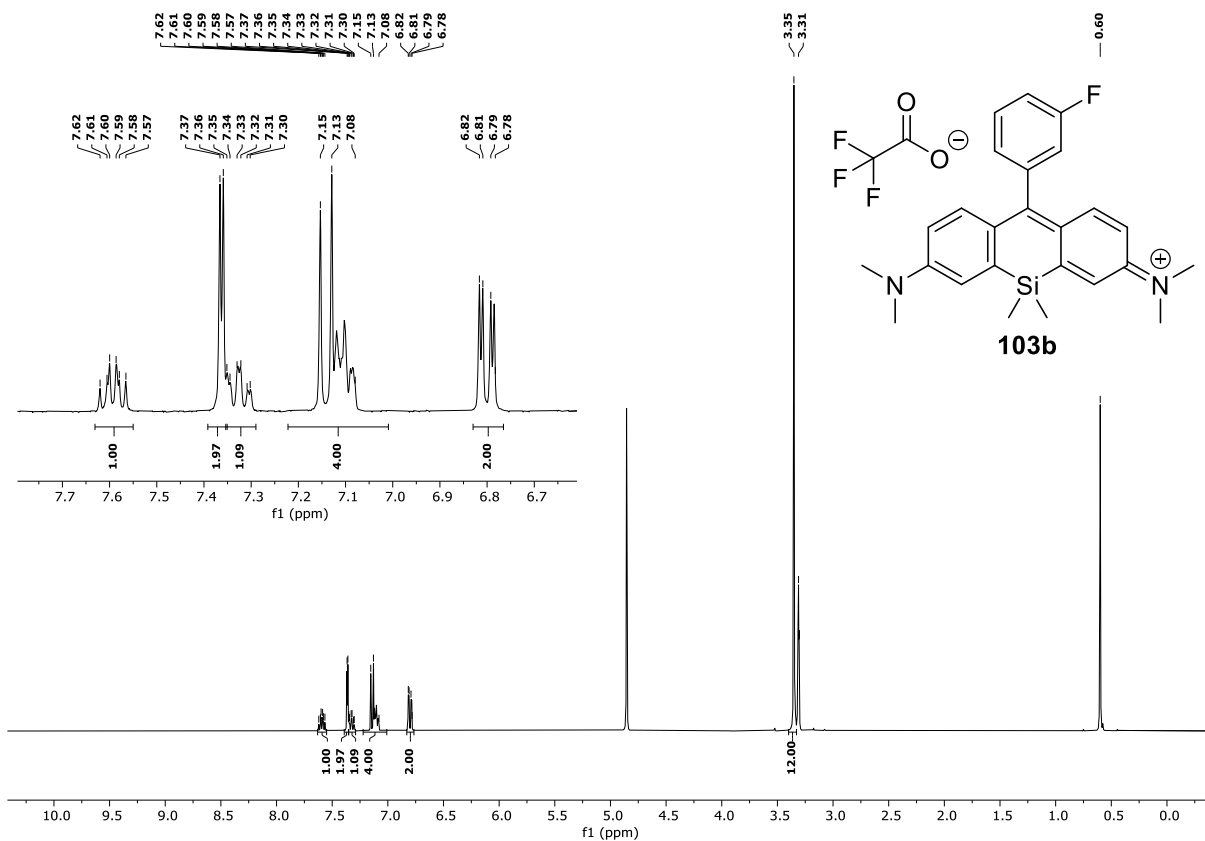


Abbildung 85: ^1H -NMR-Spektrum von **103b** in Methanol- d_4 (400 MHz, 300 K).

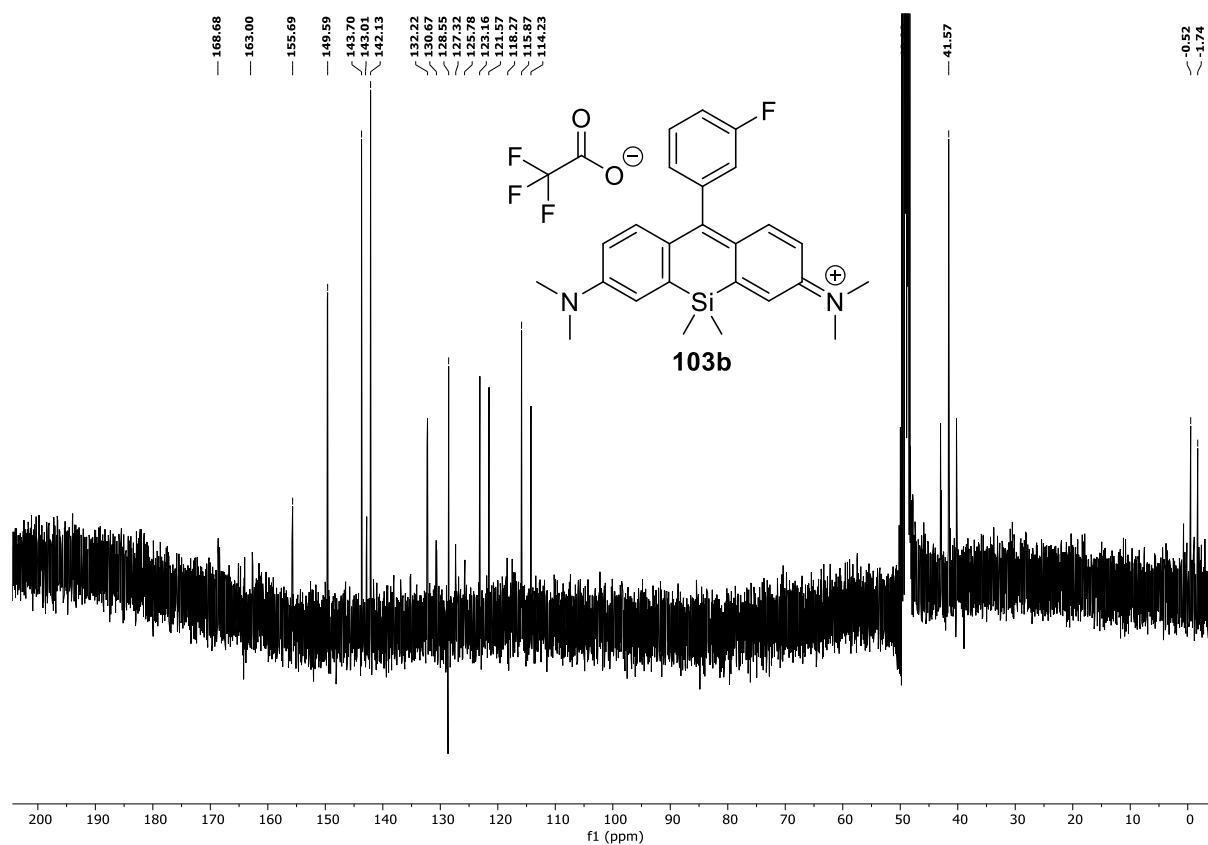


Abbildung 86: ^{13}C -NMR-Spektrum von **103b** in Methanol- d_4 (101 MHz, 300 K).

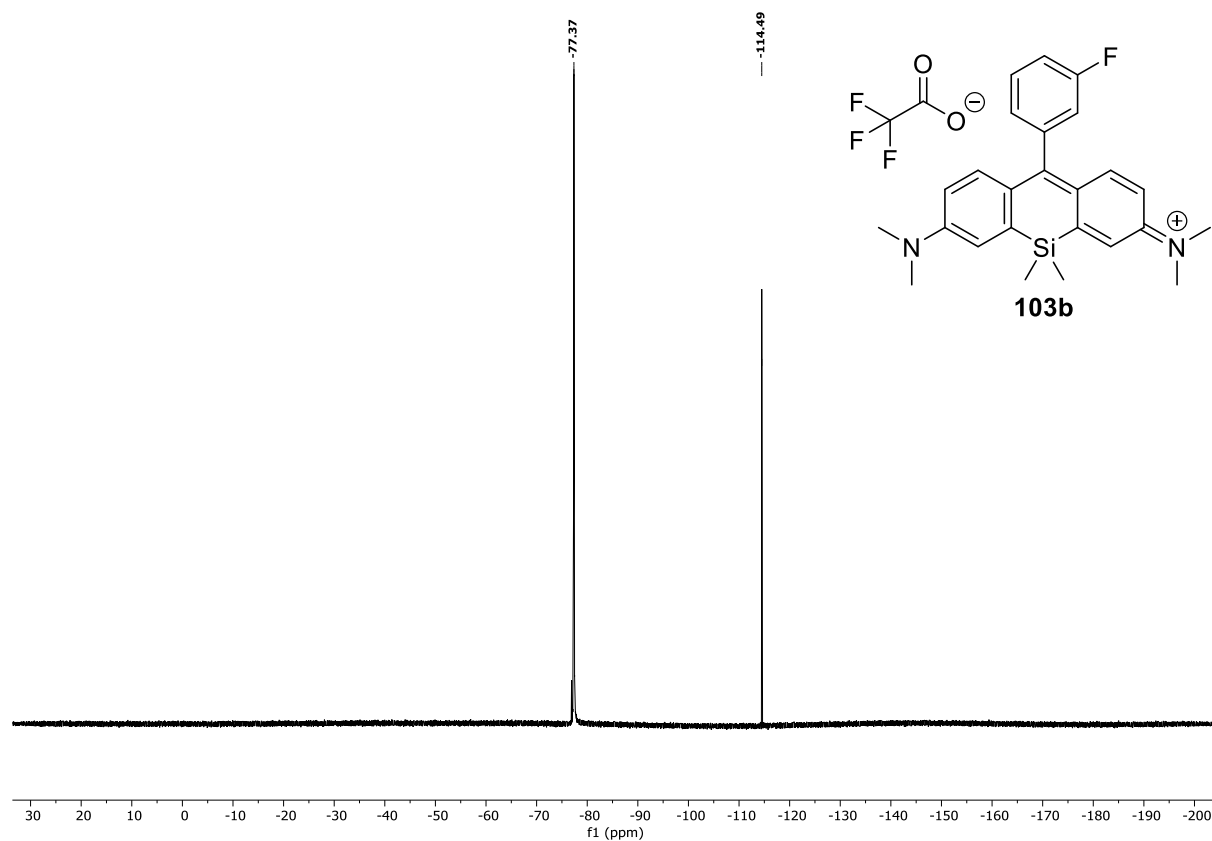


Abbildung 87: ^{19}F -NMR-Spektrum von **103b** in Methanol- d_4 (376 MHz, 300 K).

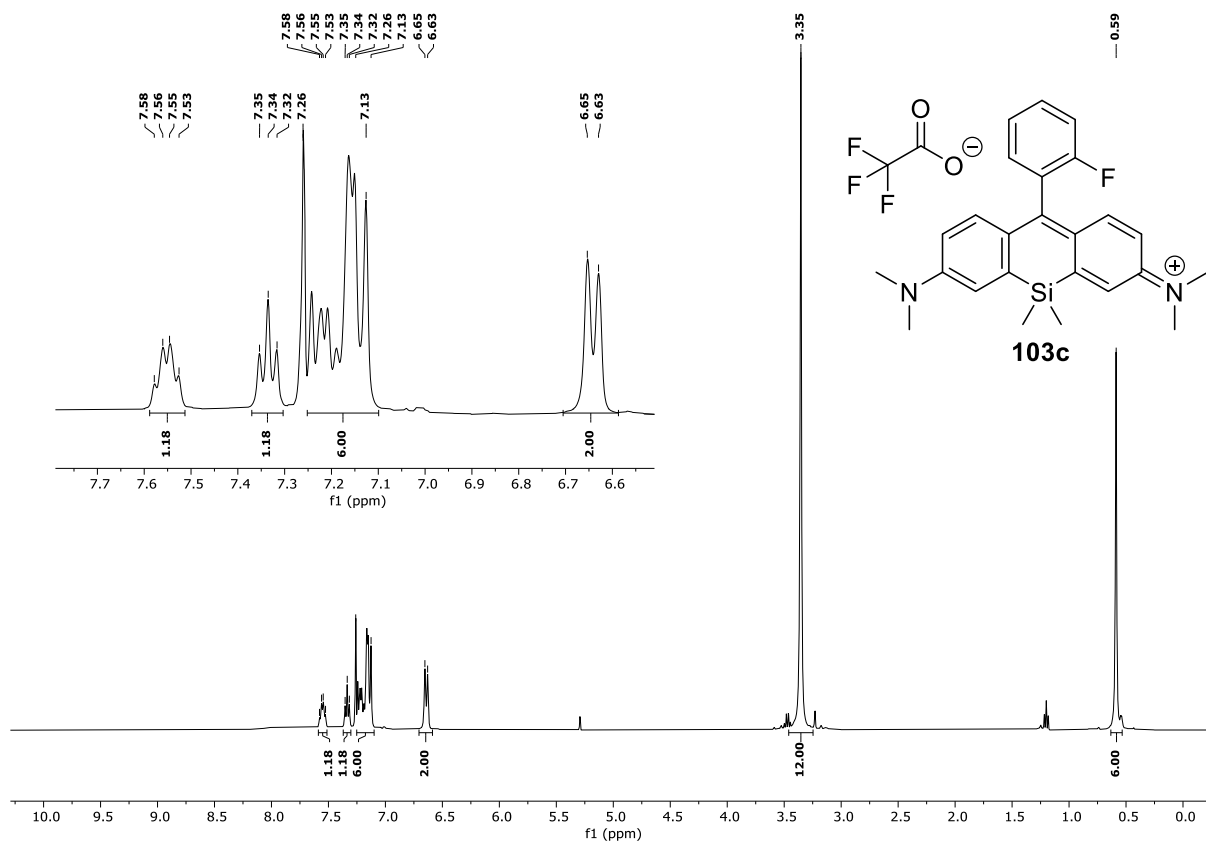


Abbildung 88: ^1H -NMR-Spektrum von **103c** in Chloroform-*d* (400 MHz, 300 K).

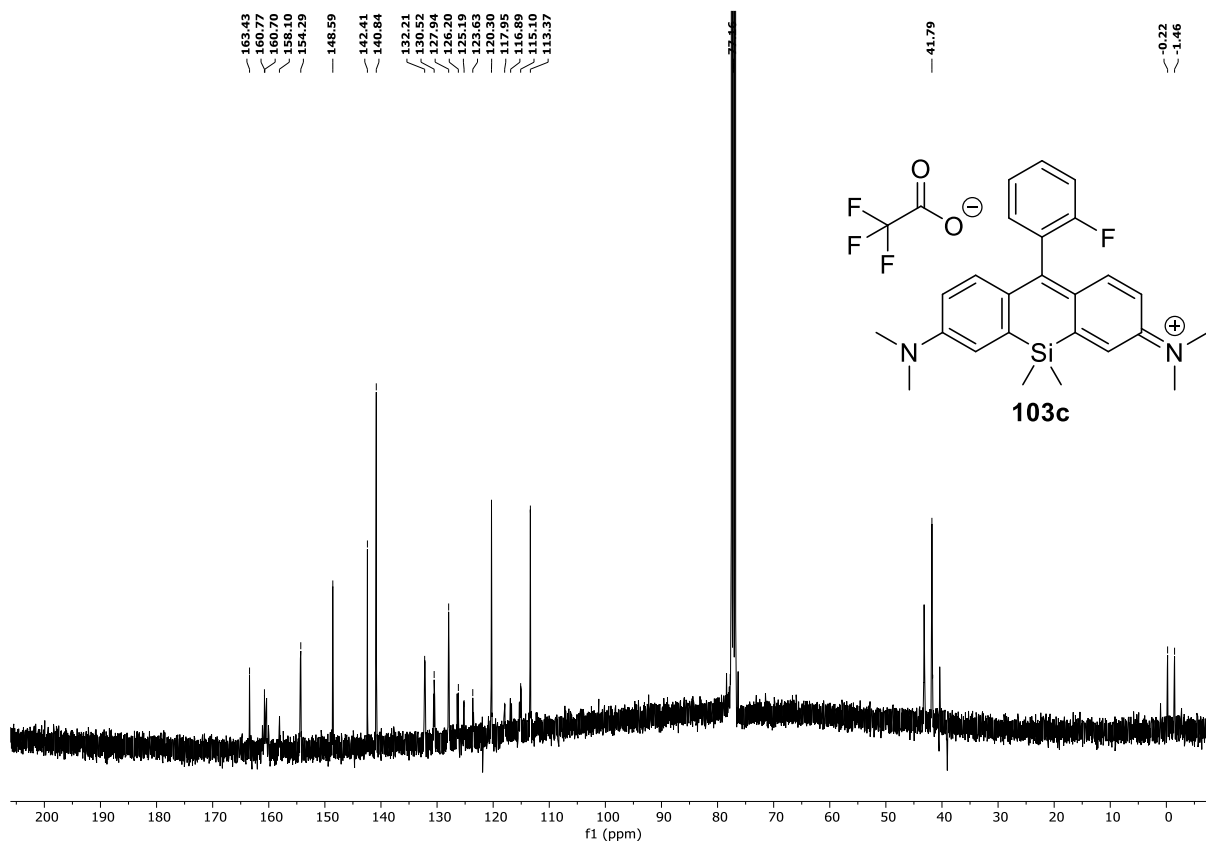


Abbildung 89: ^{13}C -NMR-Spektrum von **103c** in Chloroform-*d* (101 MHz, 300 K).



Abbildung 90: ^{19}F -NMR-Spektrum von **103c** in Chloroform- d (376 MHz, 300 K).

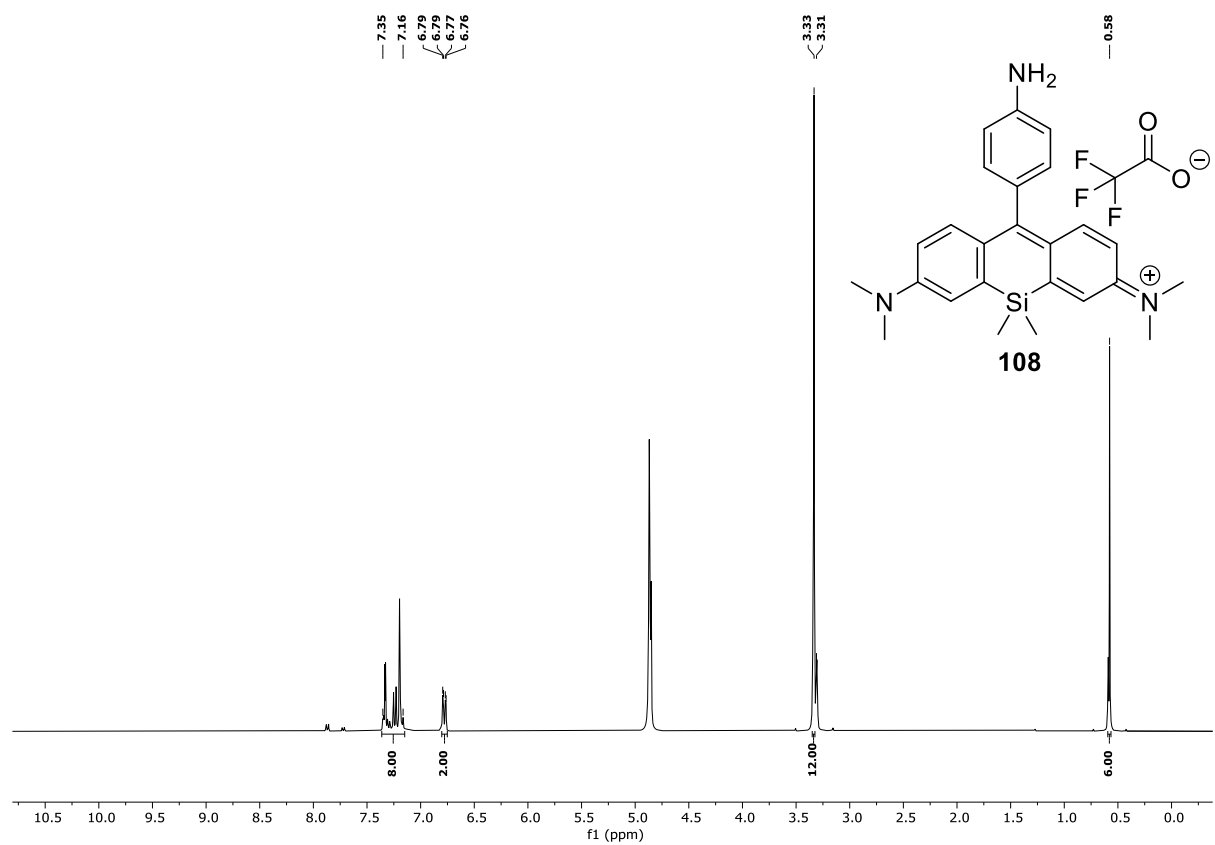
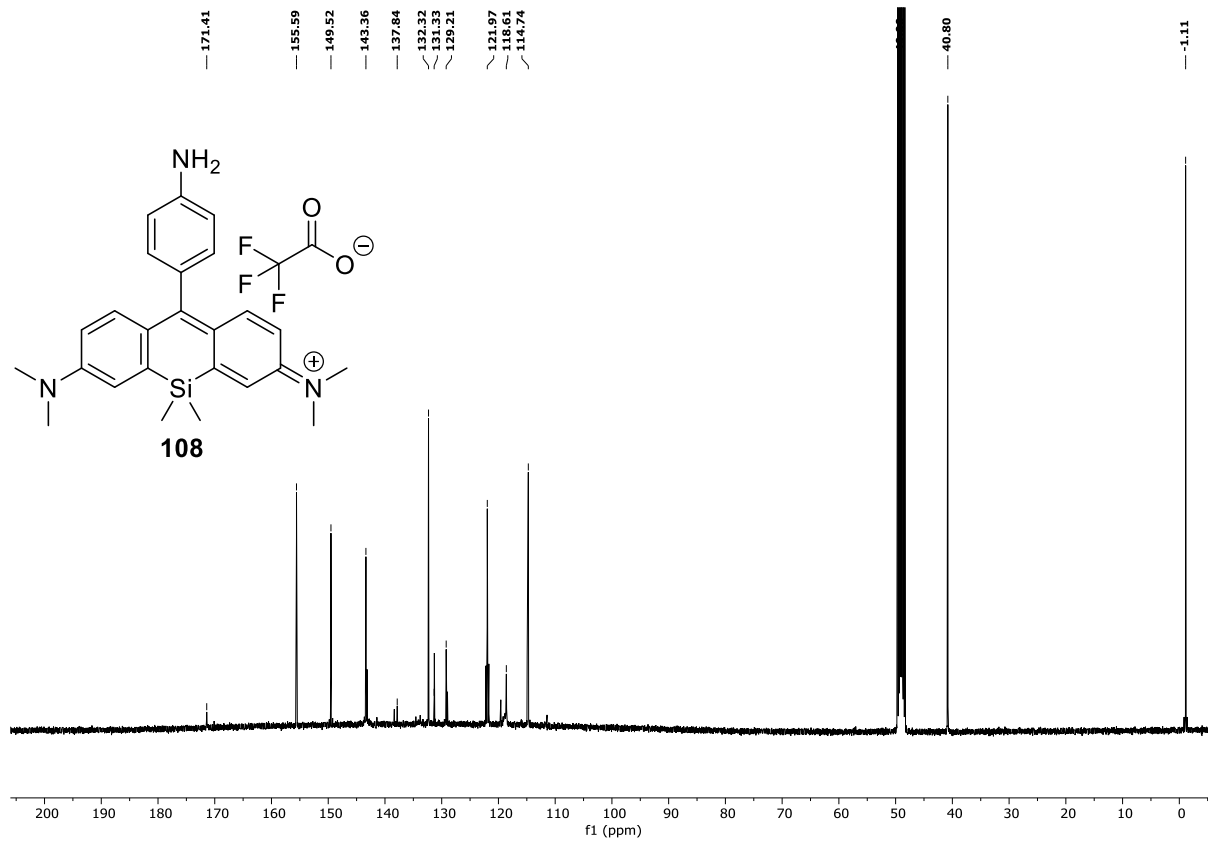
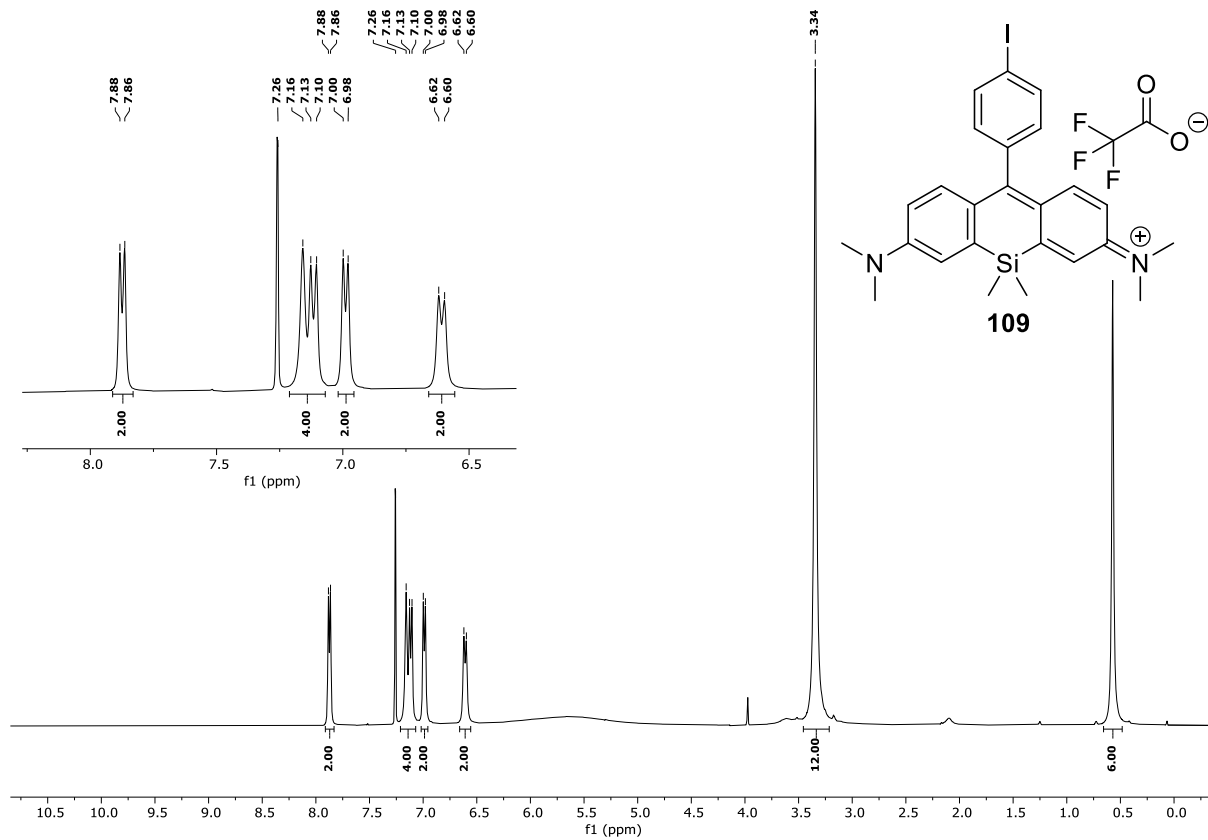


Abbildung 91: ^1H -NMR-Spektrum von **108** in Methanol- d_4 (400 MHz, 300 K).

Abbildung 92: ^{13}C -NMR-Spektrum von **108** in Methanol- d_4 (101 MHz, 300 K).Abbildung 93: ^1H -NMR-Spektrum von **109** in Chloroform- d (400 MHz, 300 K).

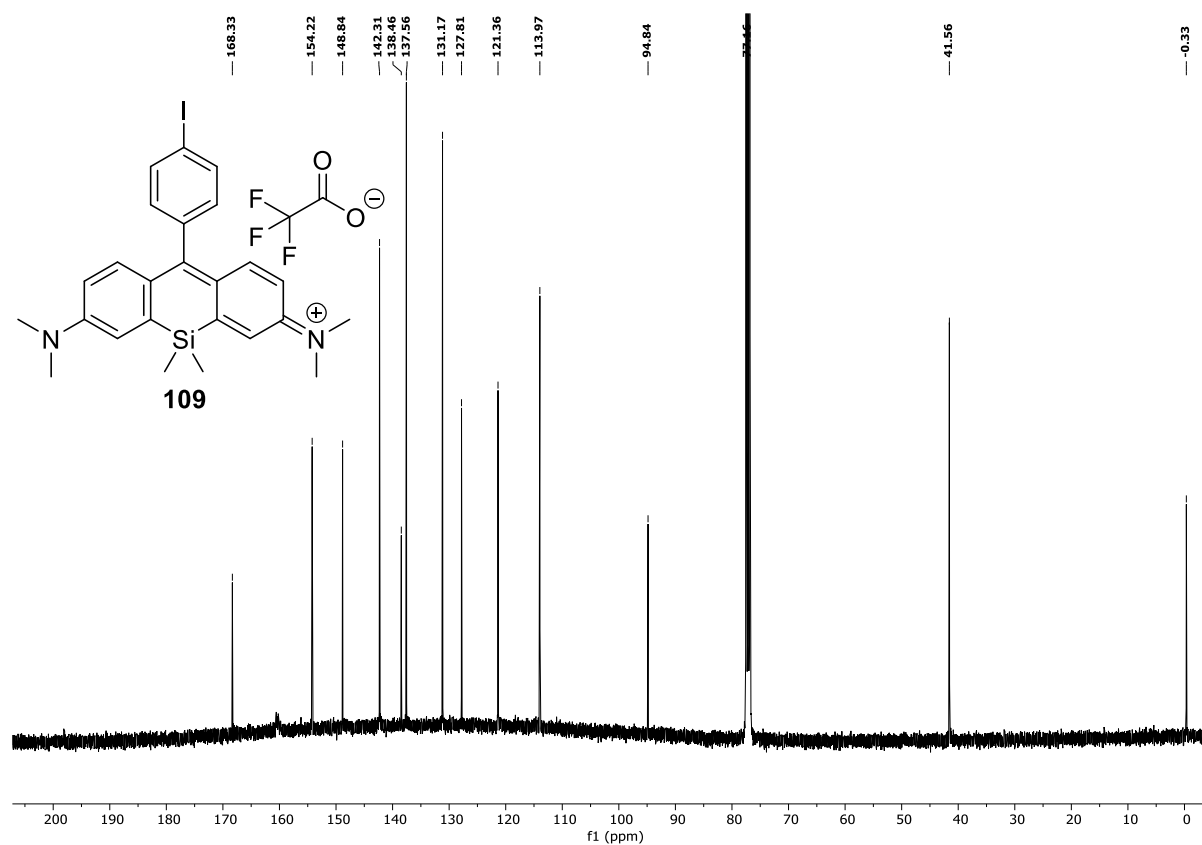


Abbildung 94: ^{13}C -NMR-Spektrum von **109** in Chloroform-*d* (101 MHz, 300 K).

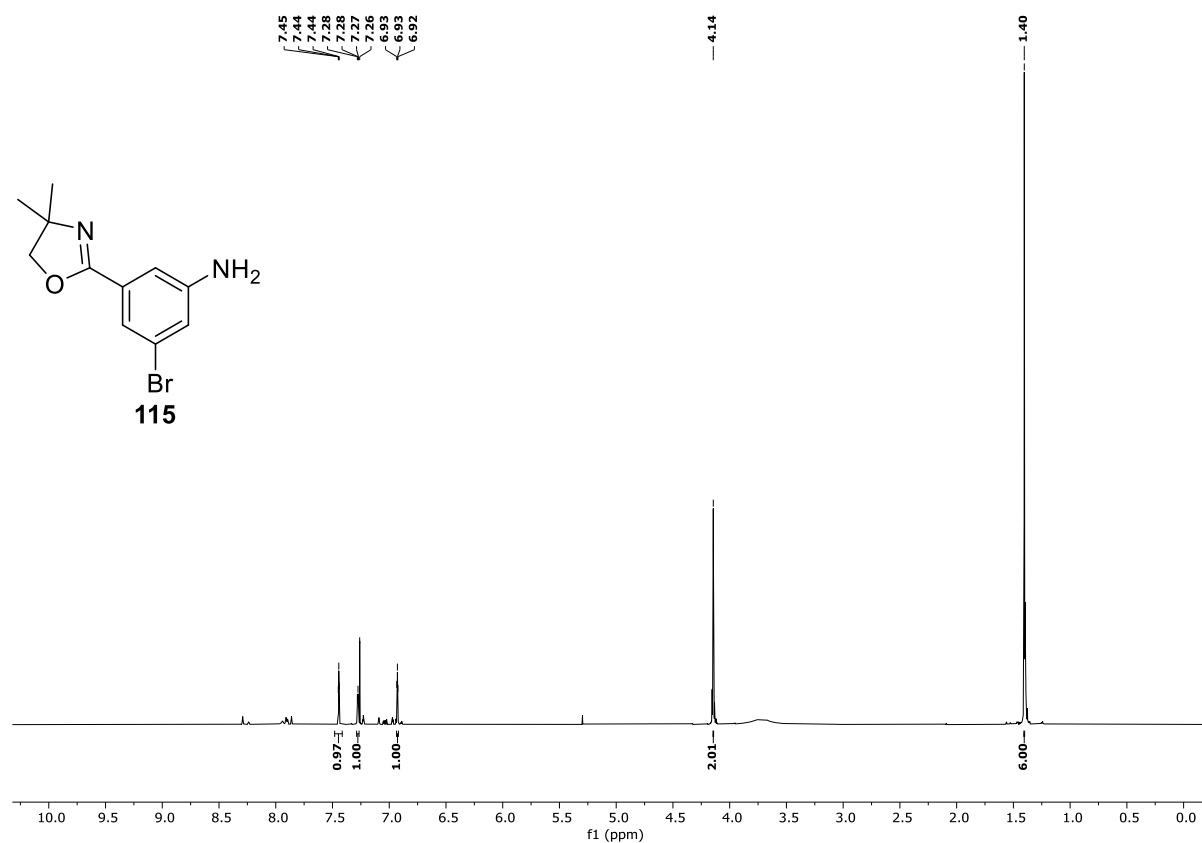
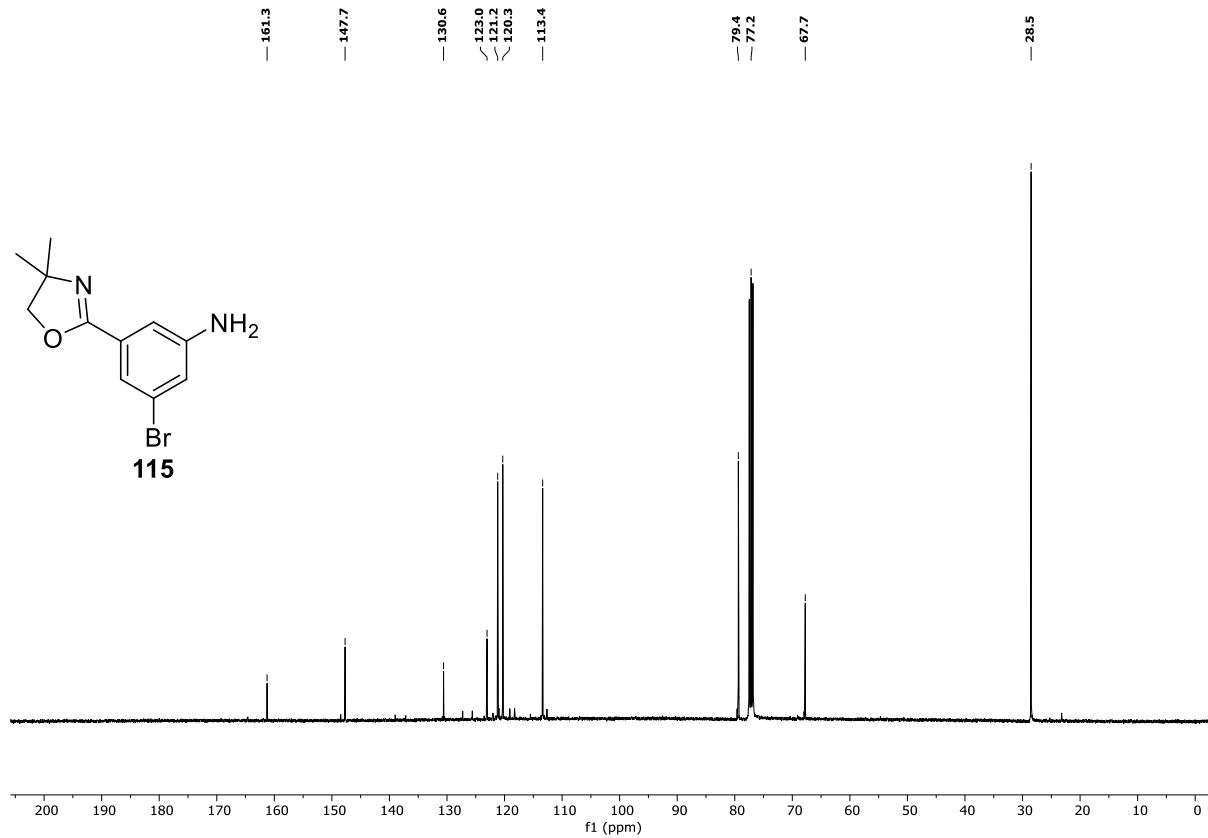
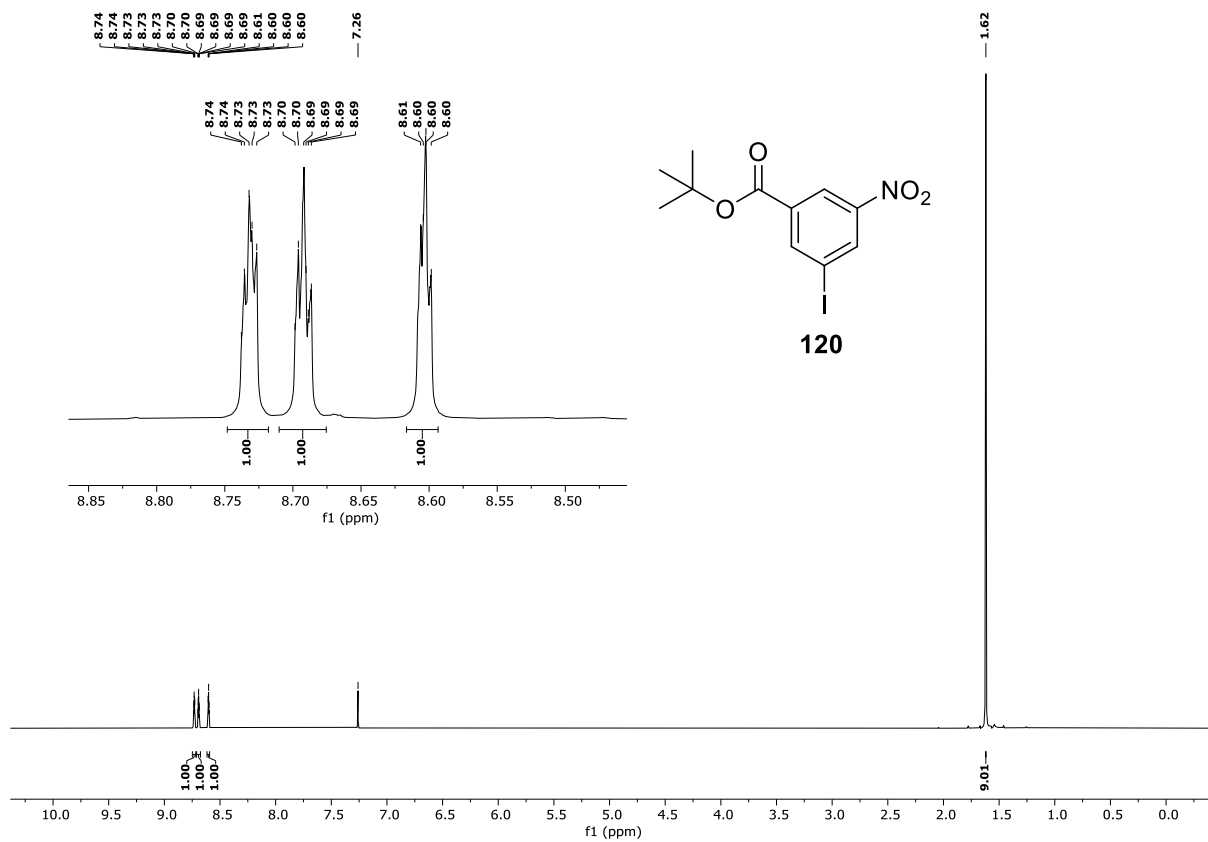
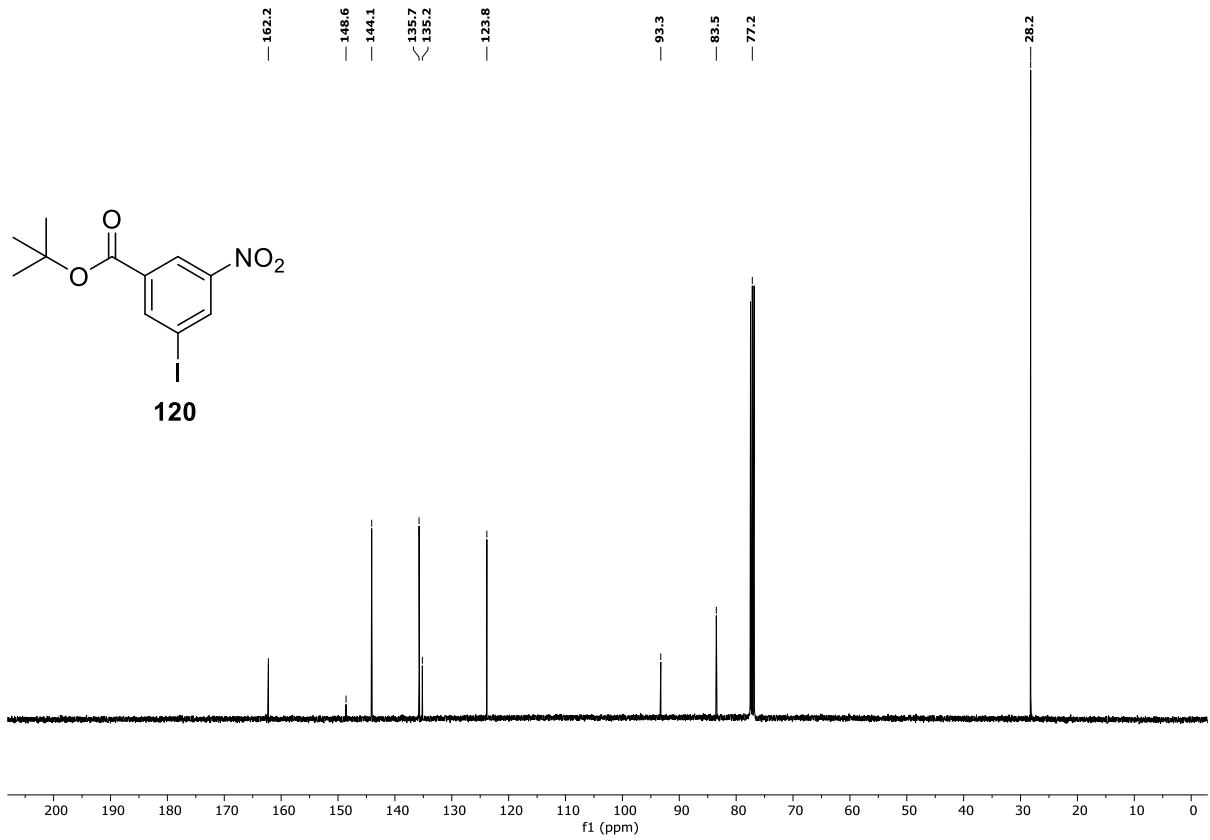
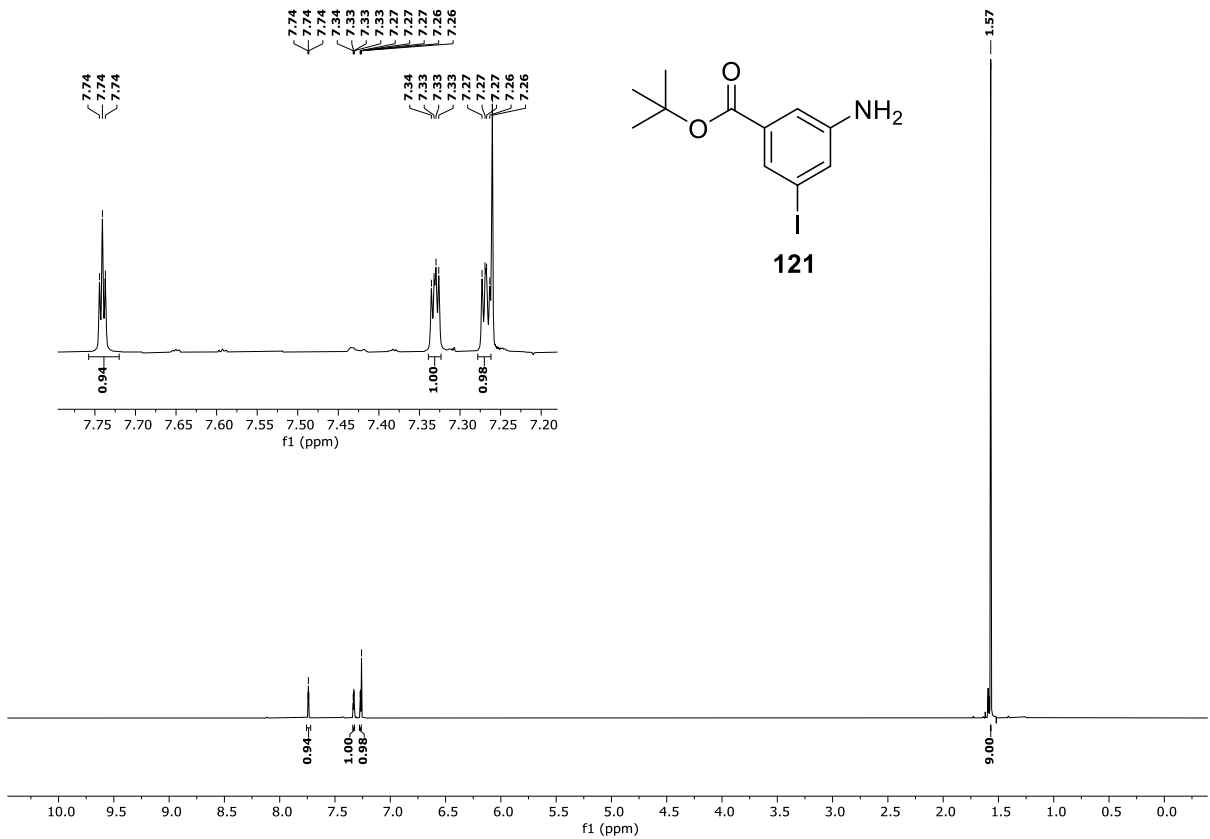
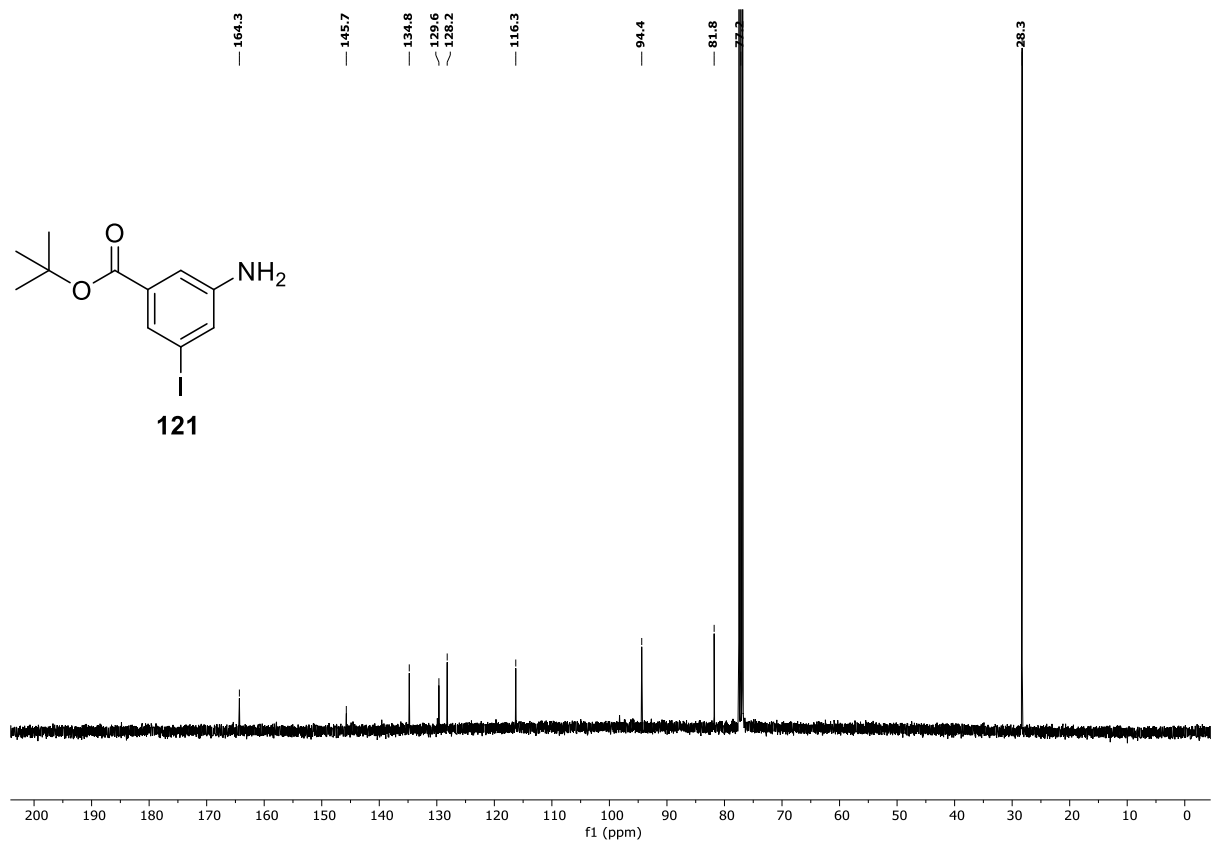
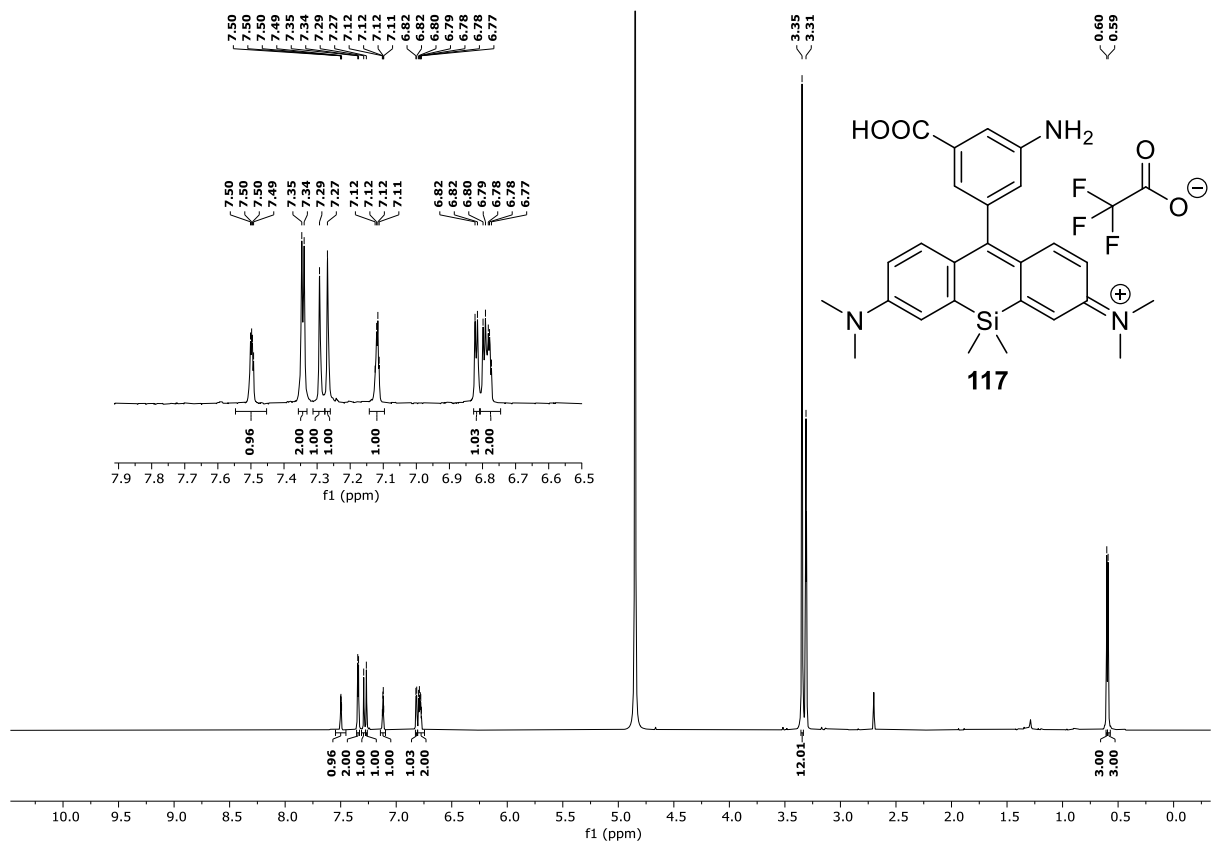
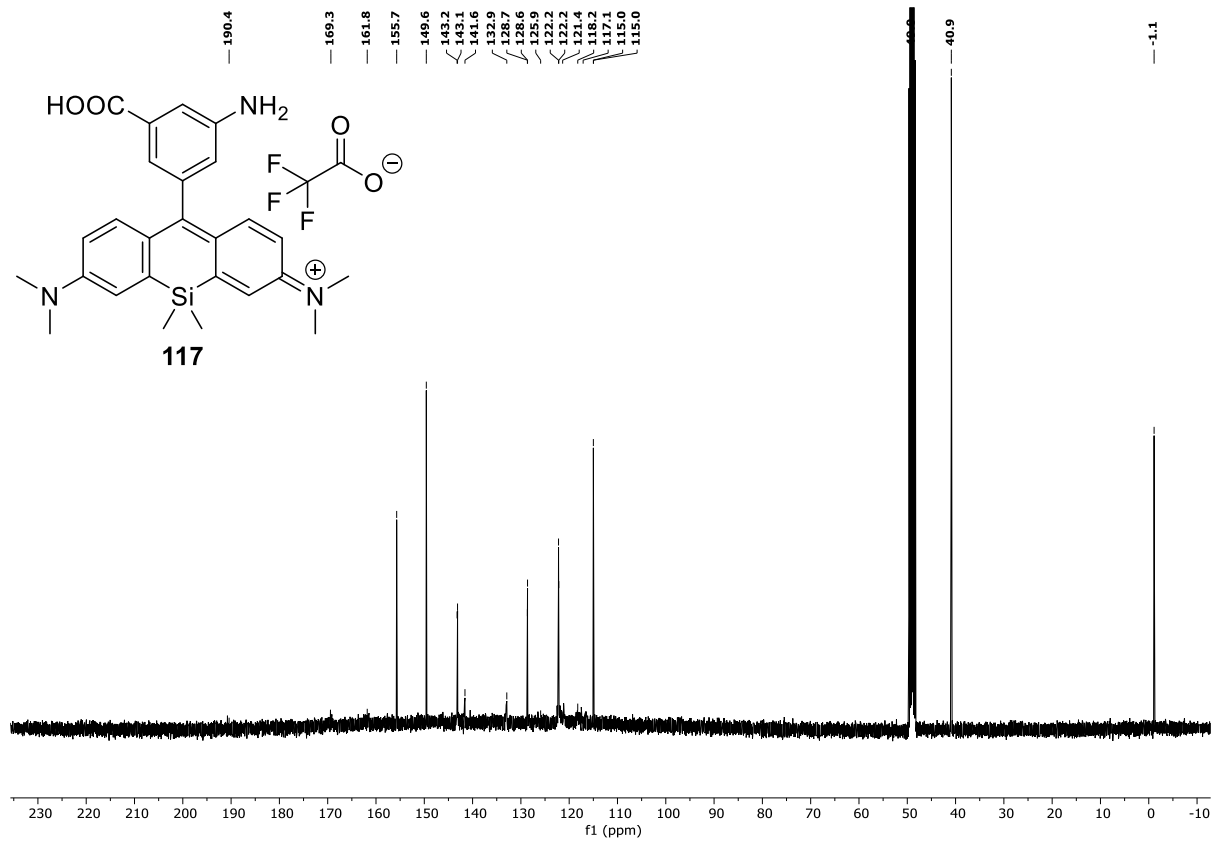
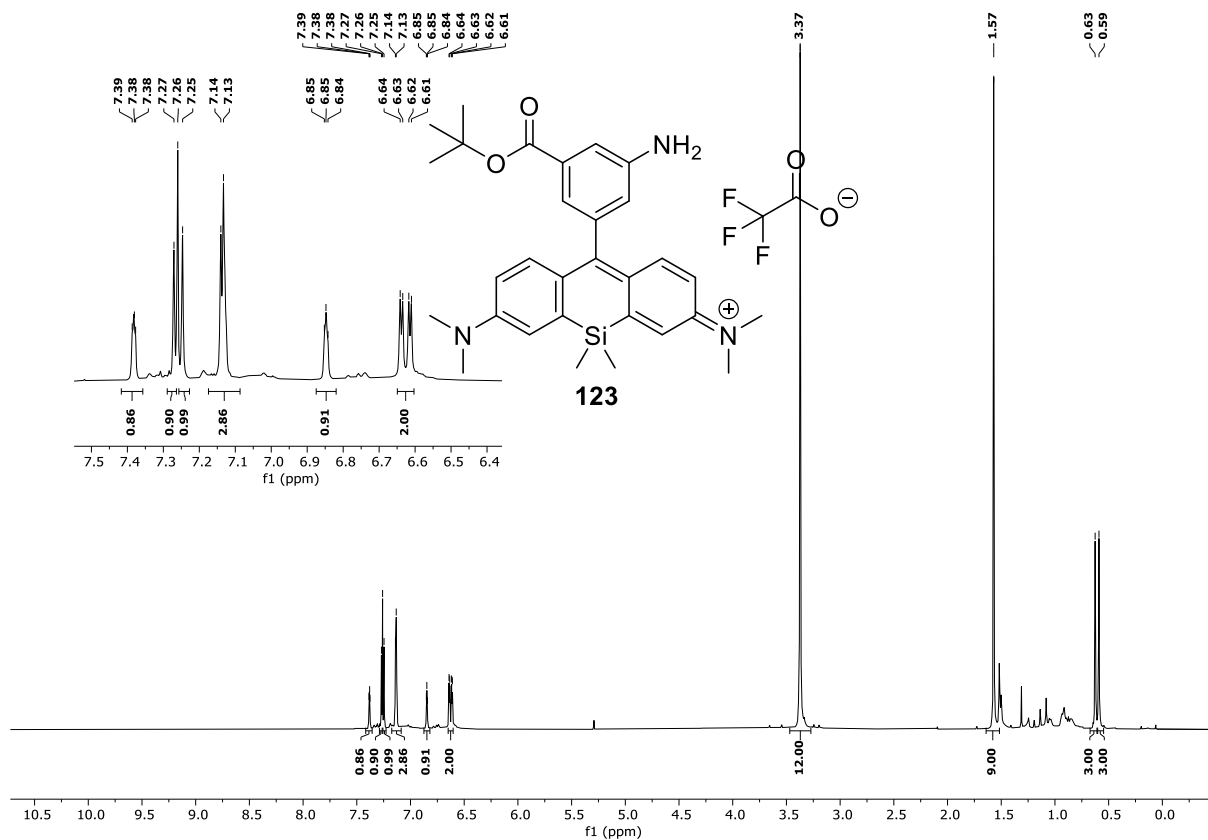


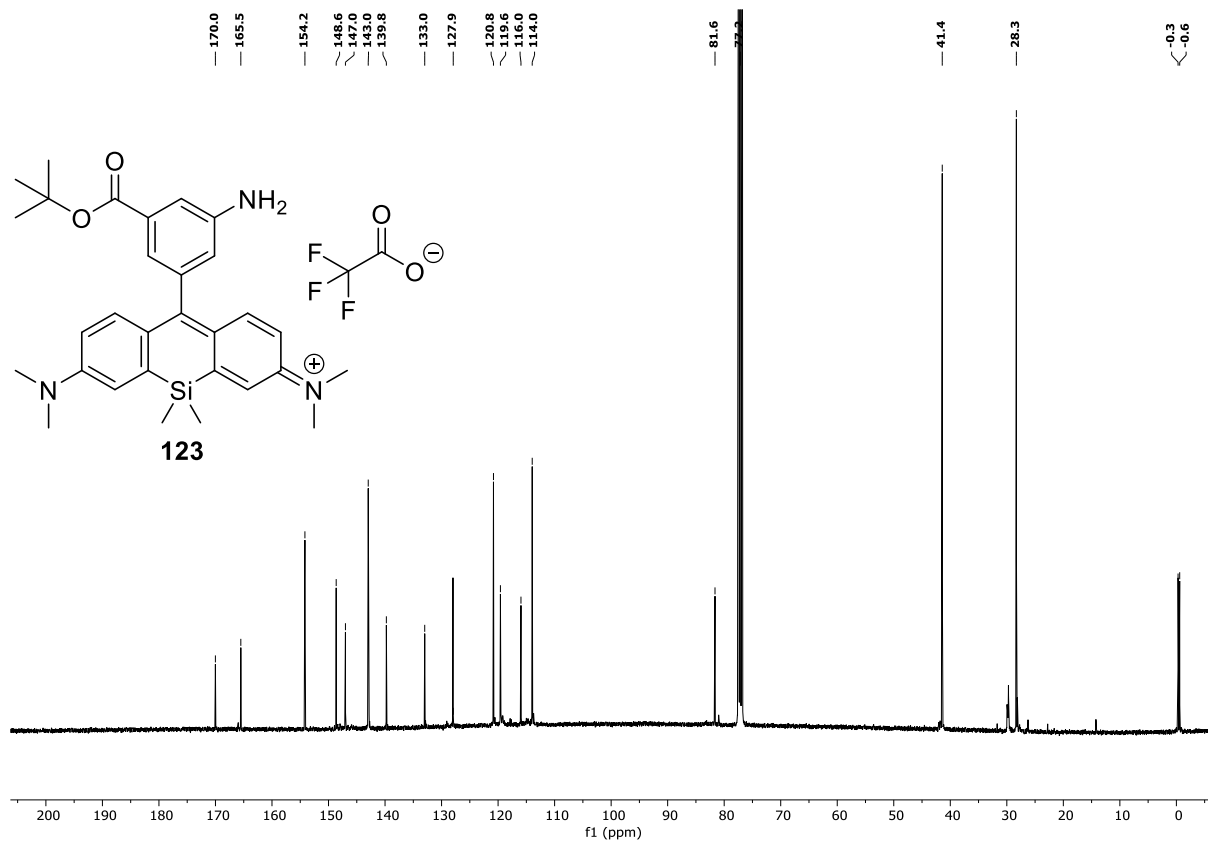
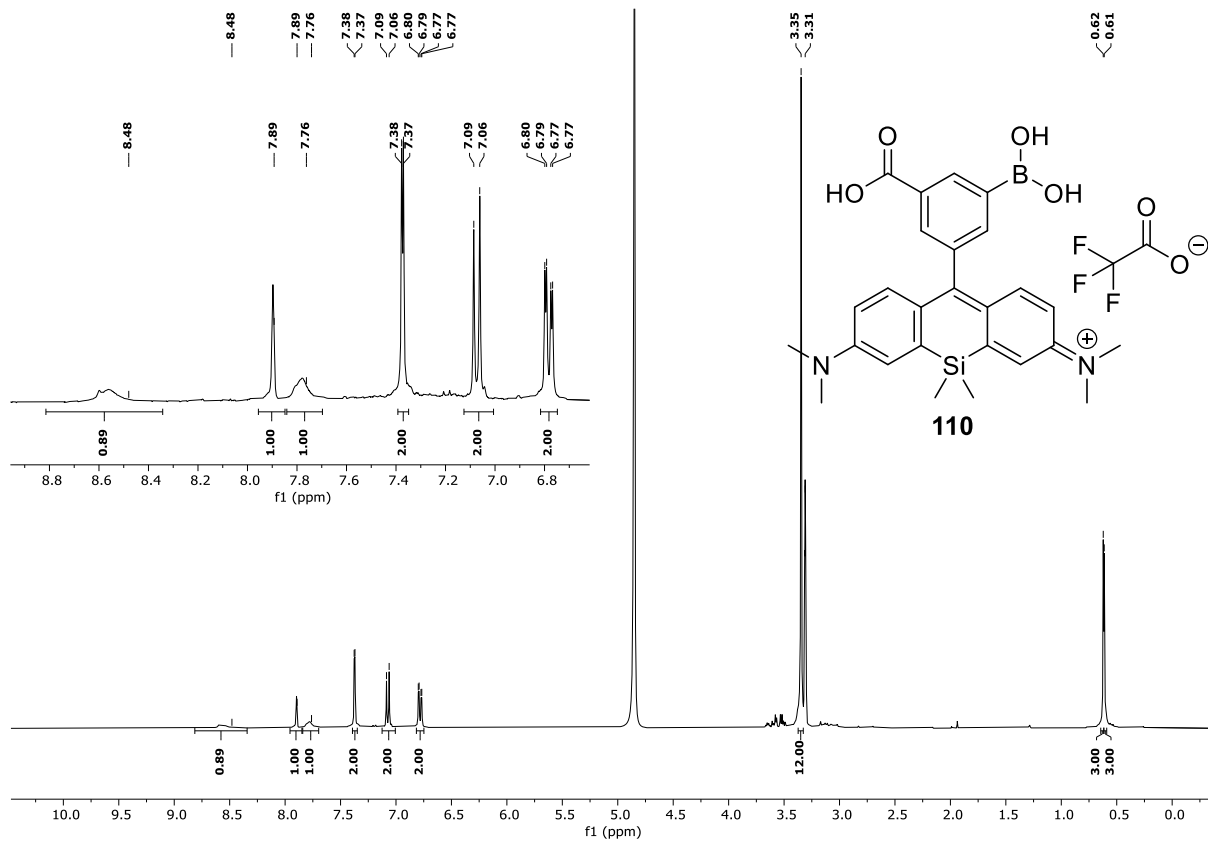
Abbildung 95: ^1H -NMR-Spektrum von **115** in Chloroform-*d* (400 MHz, 300 K).

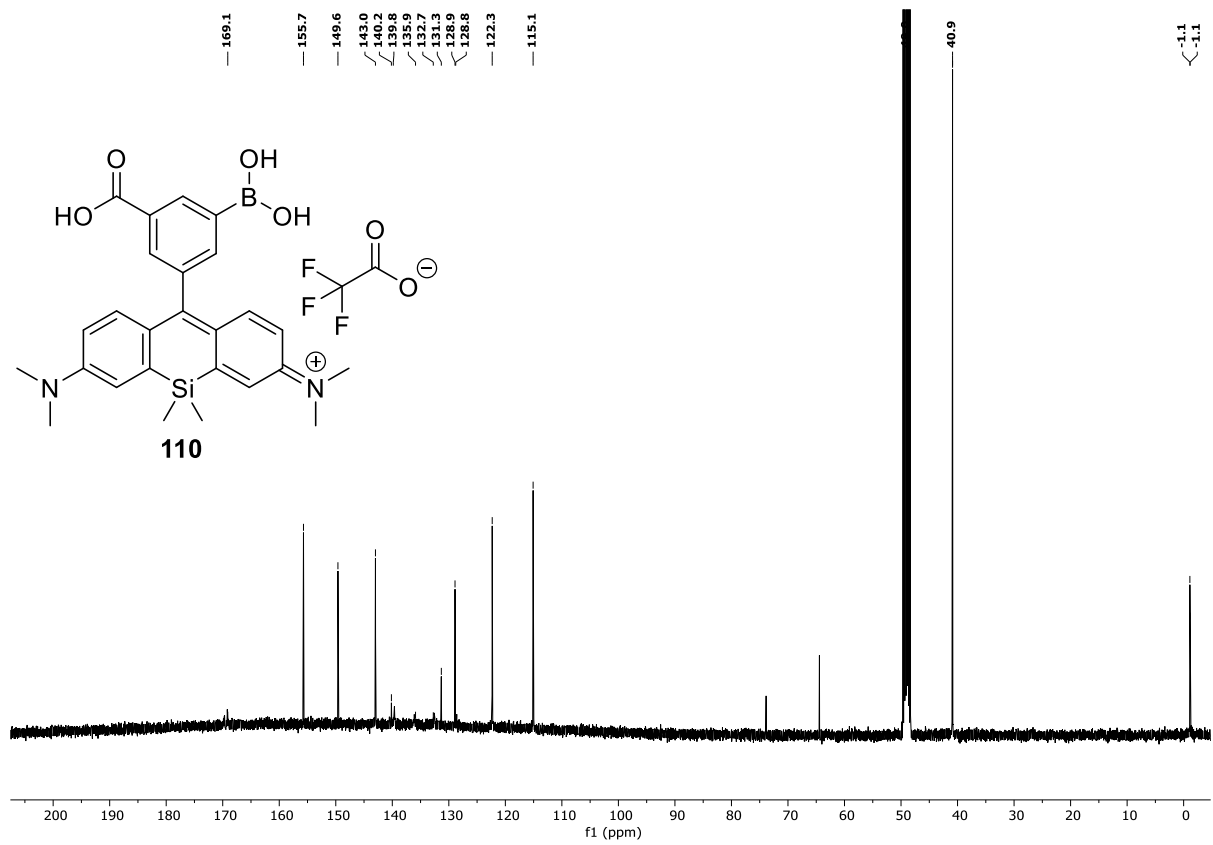
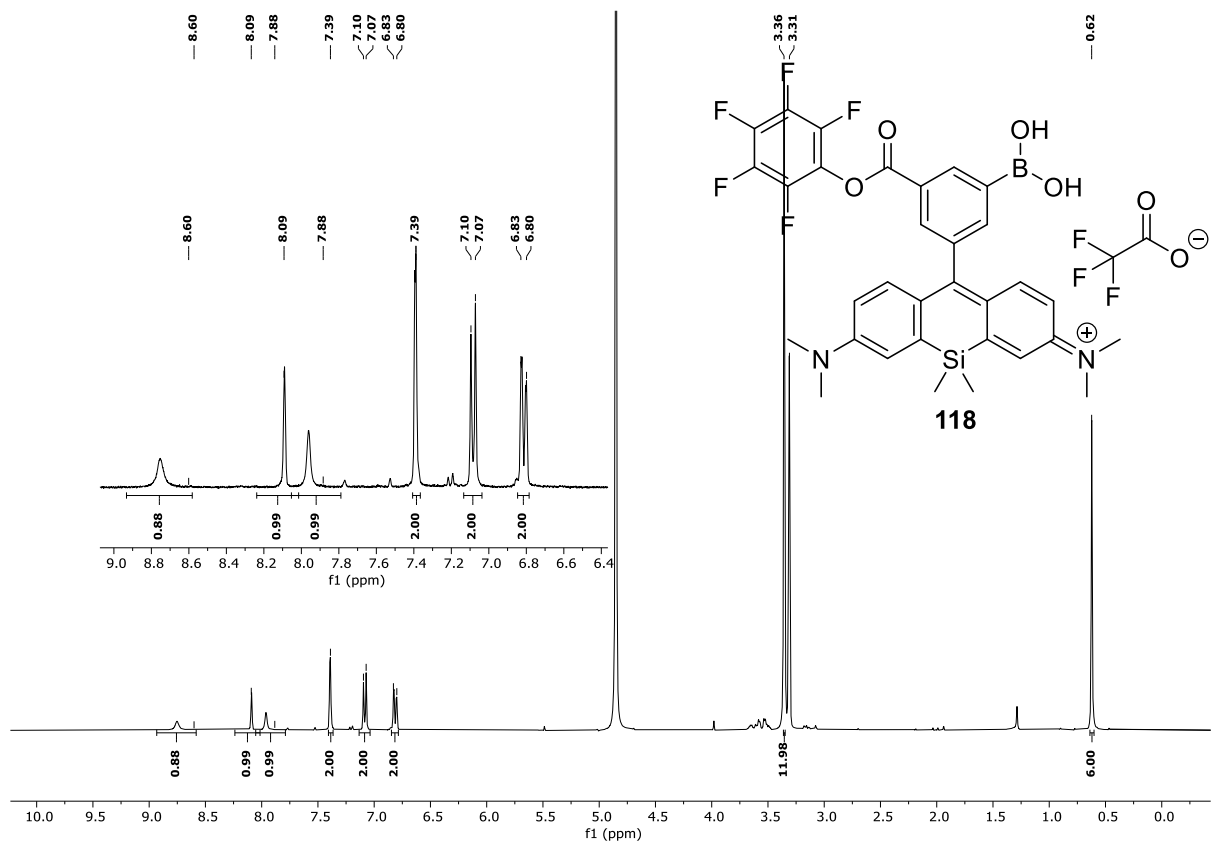
Abbildung 96: $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum von **115** in Chloroform-*d* (101 MHz, 300 K).Abbildung 97: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **120** in Chloroform-*d* (400 MHz, 300 K).

Abbildung 98: $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum von **120** in Chloroform-*d* (101 MHz, 300 K).Abbildung 99: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **121** in Chloroform-*d* (400 MHz, 300 K).

Abbildung 100: ¹³C-NMR-Spektrum von **121** in Chloroform-*d* (101 MHz, 300 K).Abbildung 101: ¹H-NMR-Spektrum von **117** in Methanol-*d*₄ (400 MHz, 300 K).

Abbildung 102: ^{13}C -NMR-Spektrum von **117** in Methanol- d_4 (101 MHz, 300 K).Abbildung 103: ^1H -NMR-Spektrum von **123** in Chloroform- d (400 MHz, 300 K).

Abbildung 104: ¹³C-NMR-Spektrum von **123** in Chloroform-*d* (101 MHz, 300 K).Abbildung 105: ¹H-NMR-Spektrum von **110** in Methanol-*d*₄ (400 MHz, 300 K).

Abbildung 106: ^{13}C -NMR-Spektrum von **110** in Methanol- d_4 (101 MHz, 300 K).Abbildung 107: ^1H -NMR-Spektrum von **118** in Methanol- d_4 (400 MHz, 300 K).

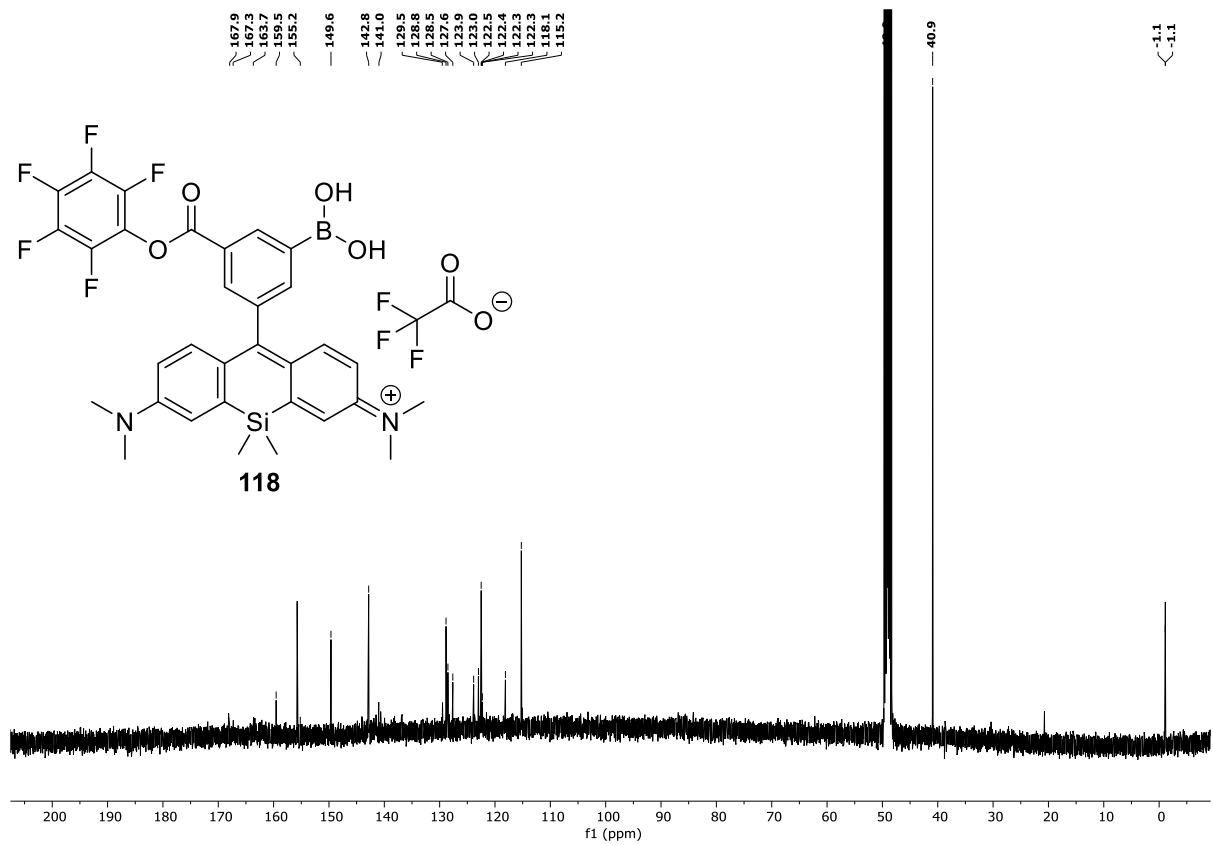


Abbildung 108: ^{13}C -NMR-Spektrum von **118** in Methanol- d_4 (101 MHz, 300 K).

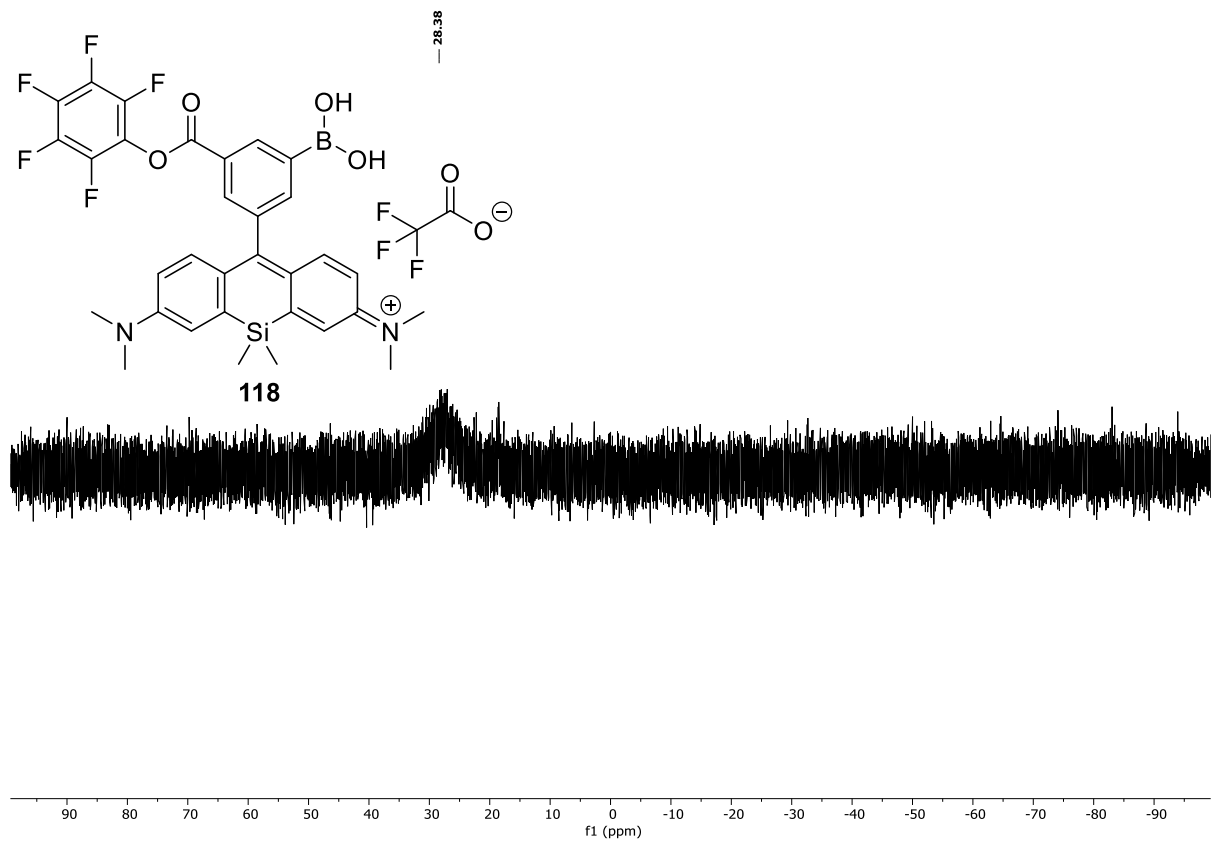
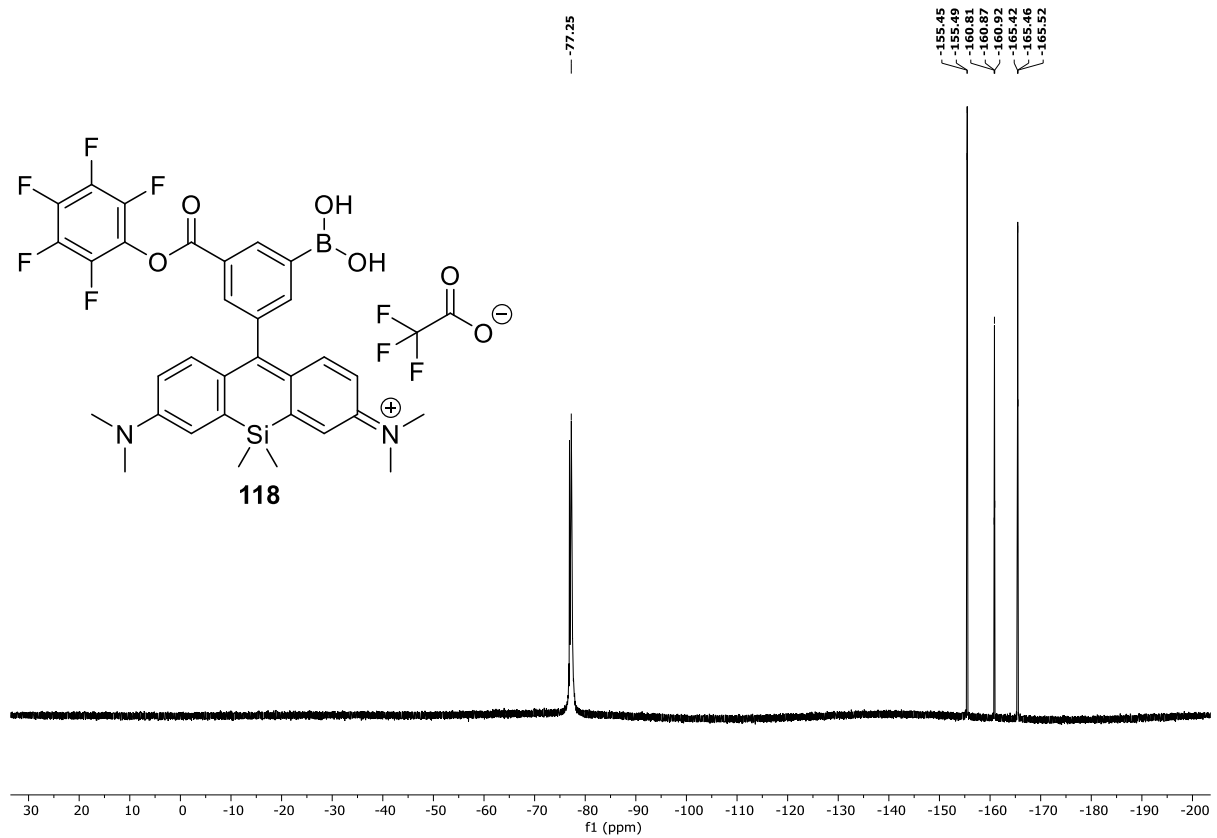
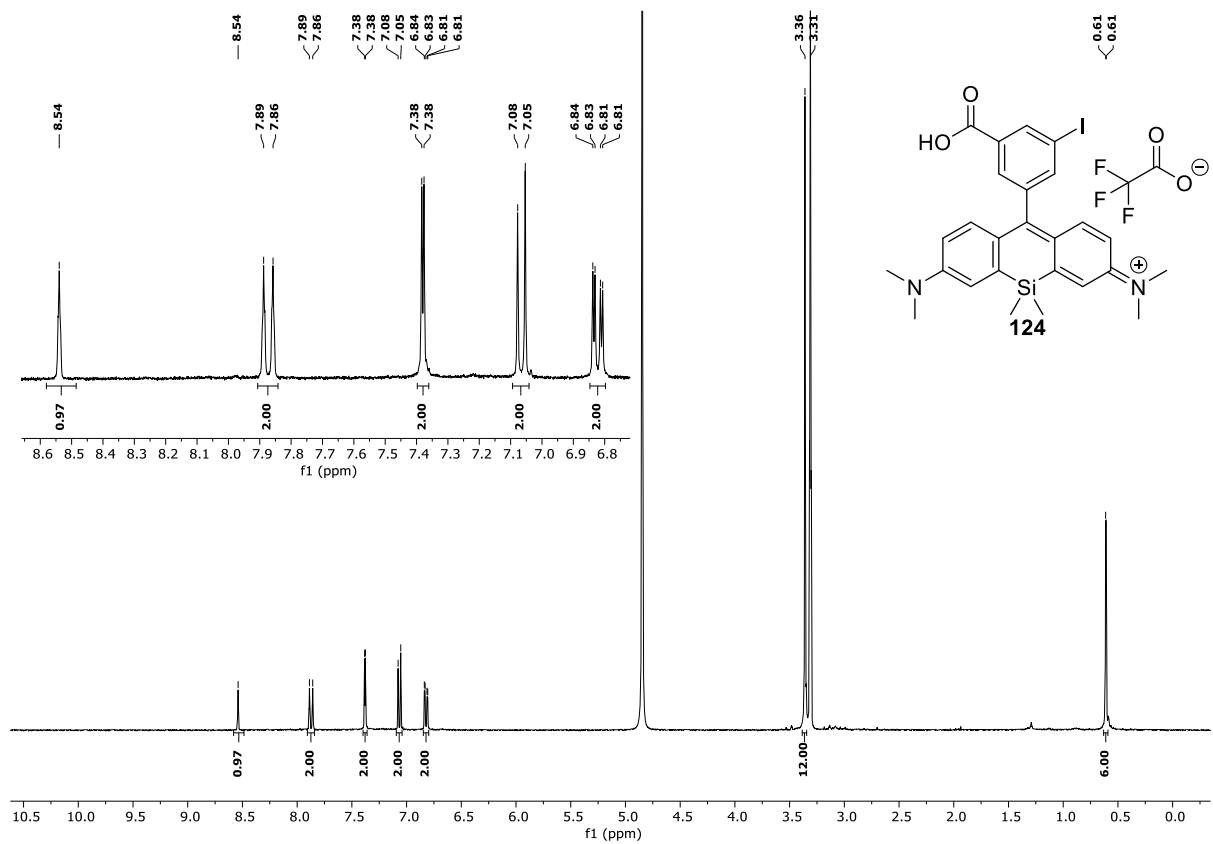
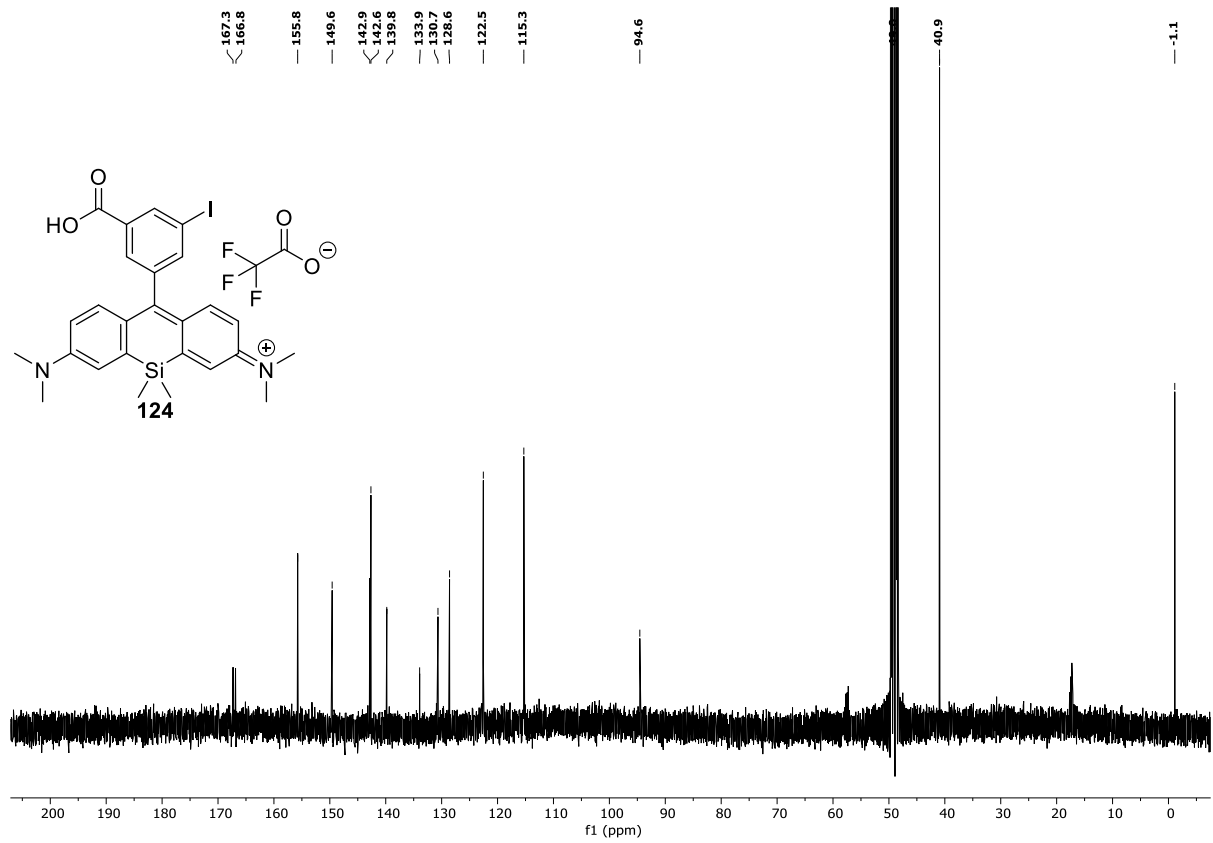
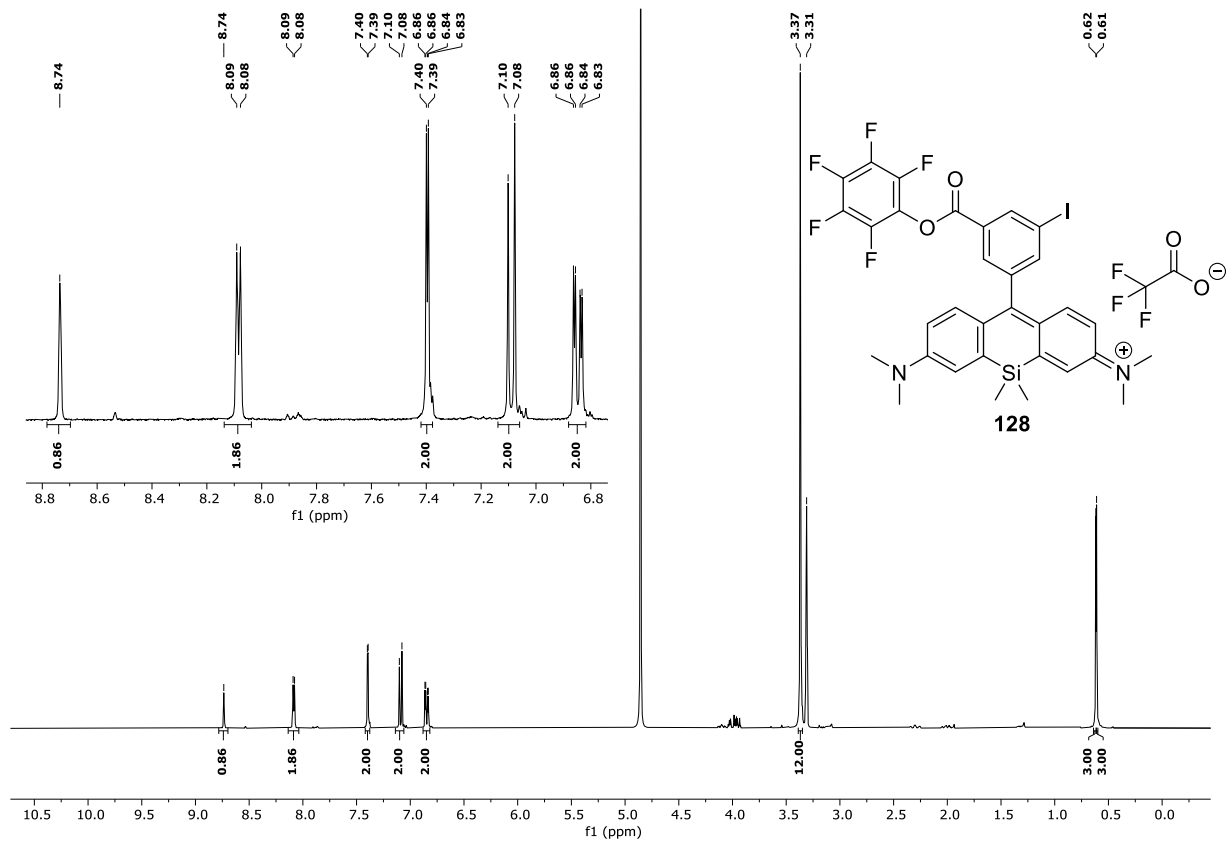
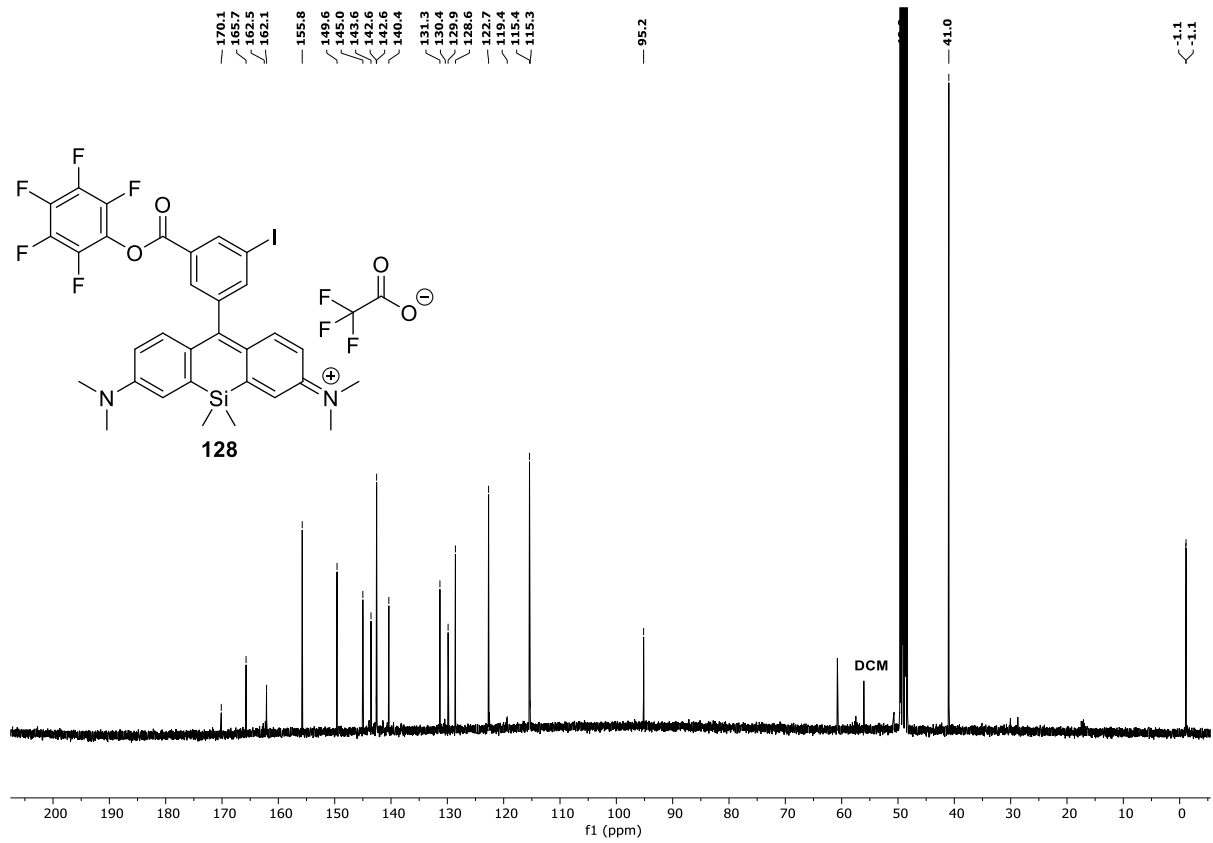
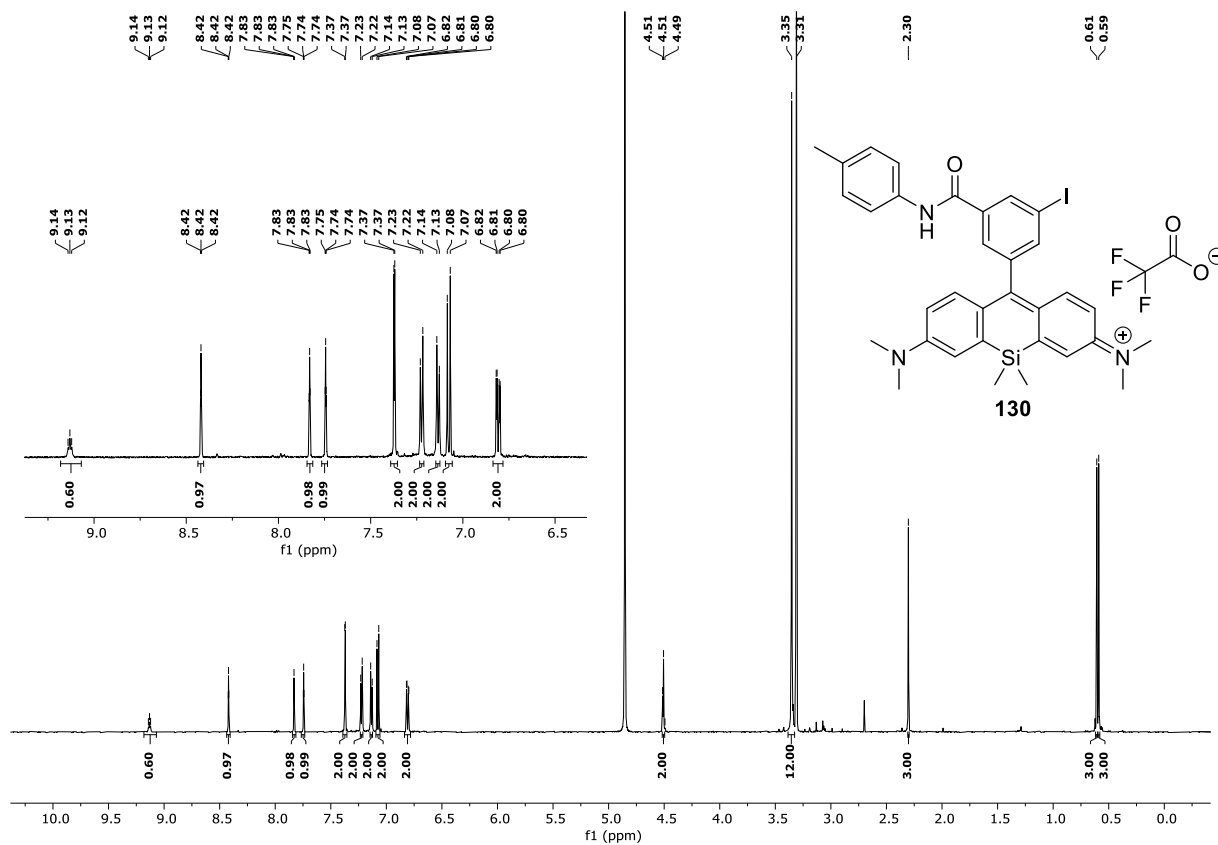
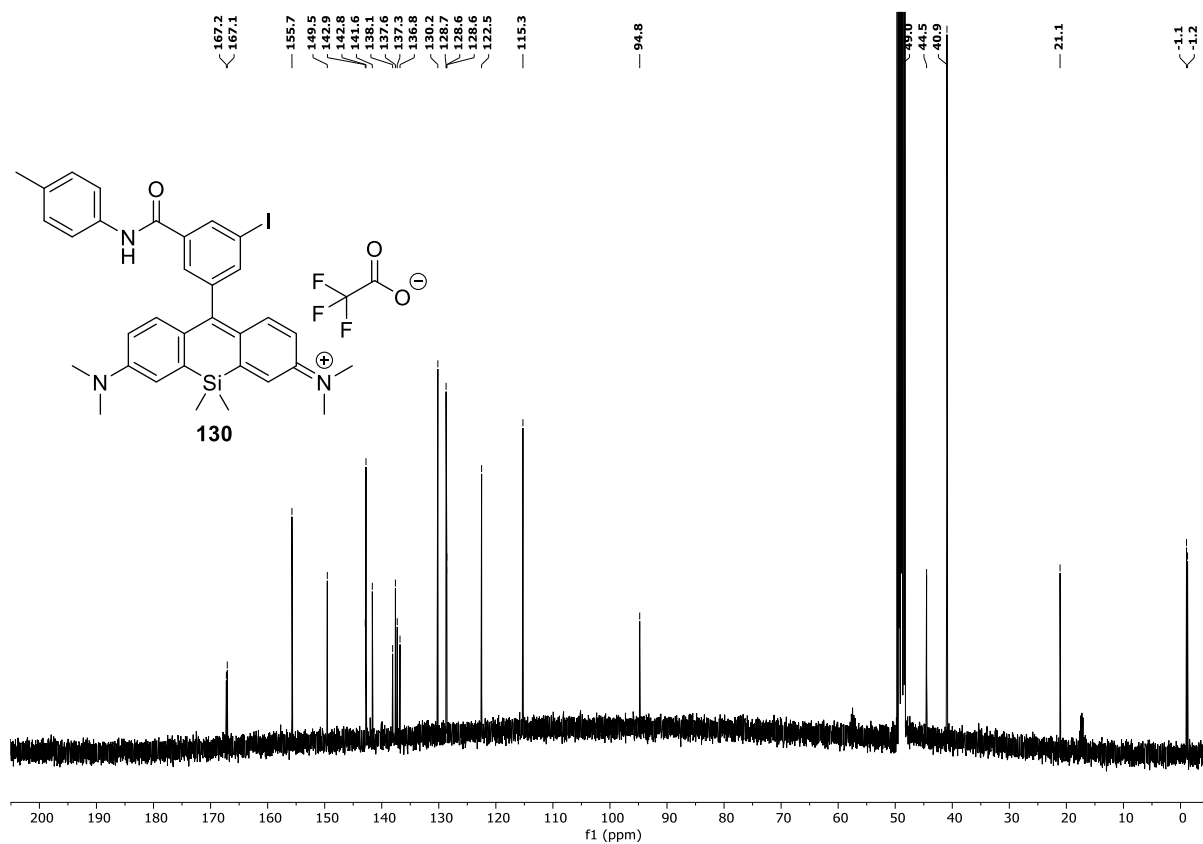


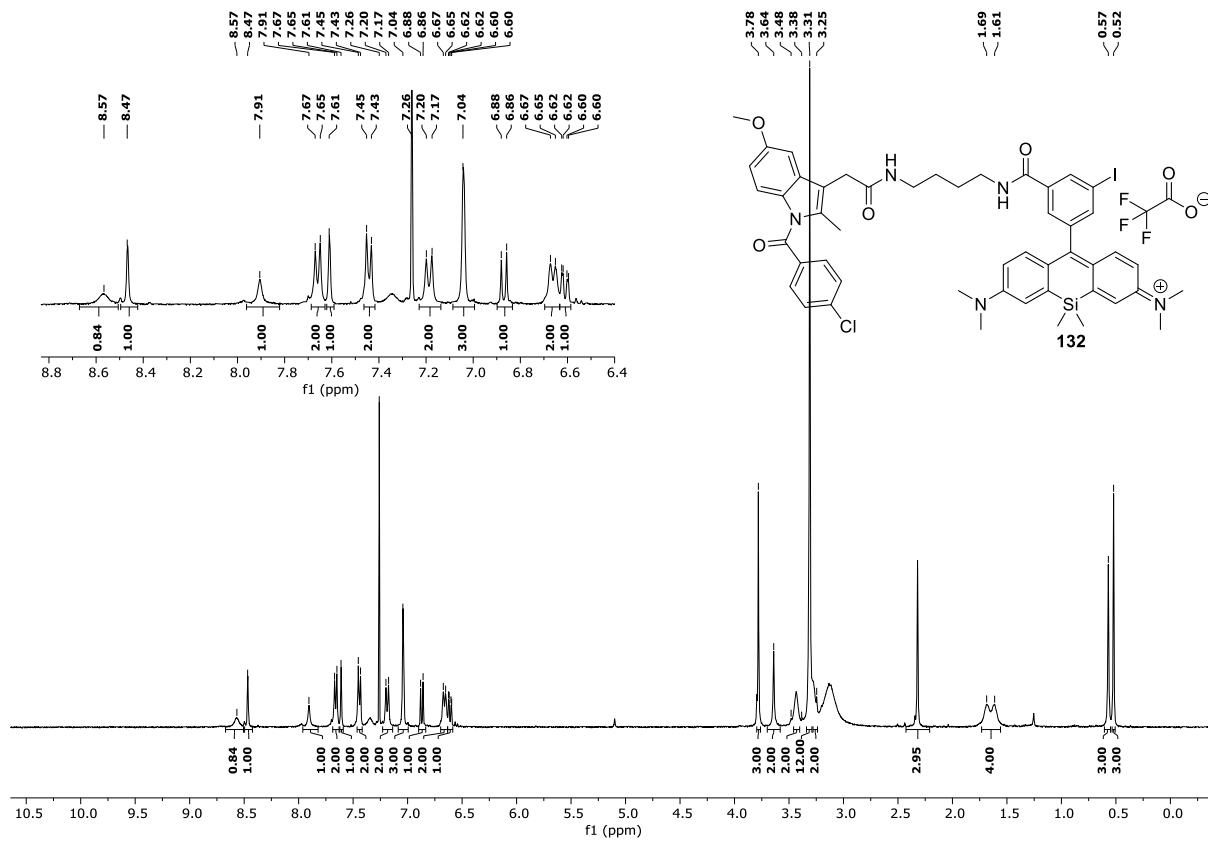
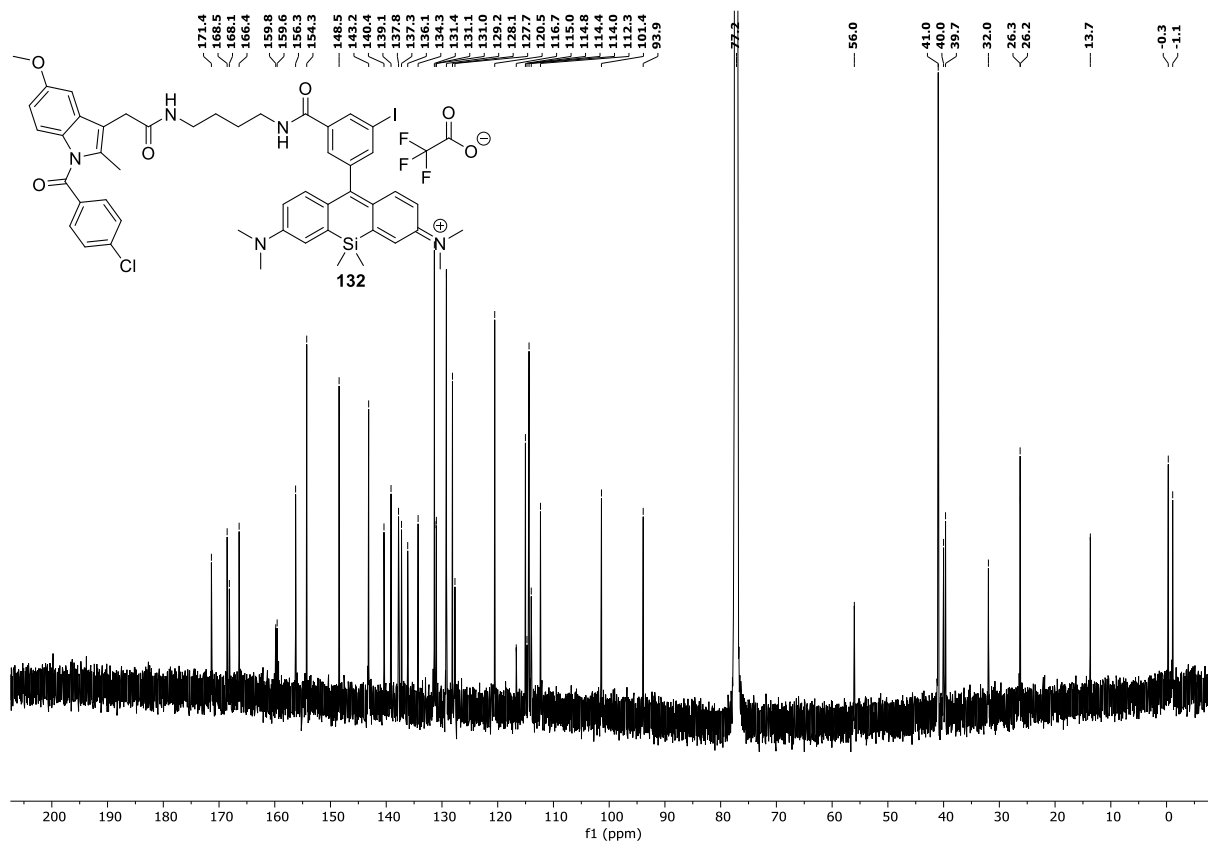
Abbildung 109: ^{11}B -NMR-Spektrum von **118** in Methanol- d_4 (128 MHz, 300 K).

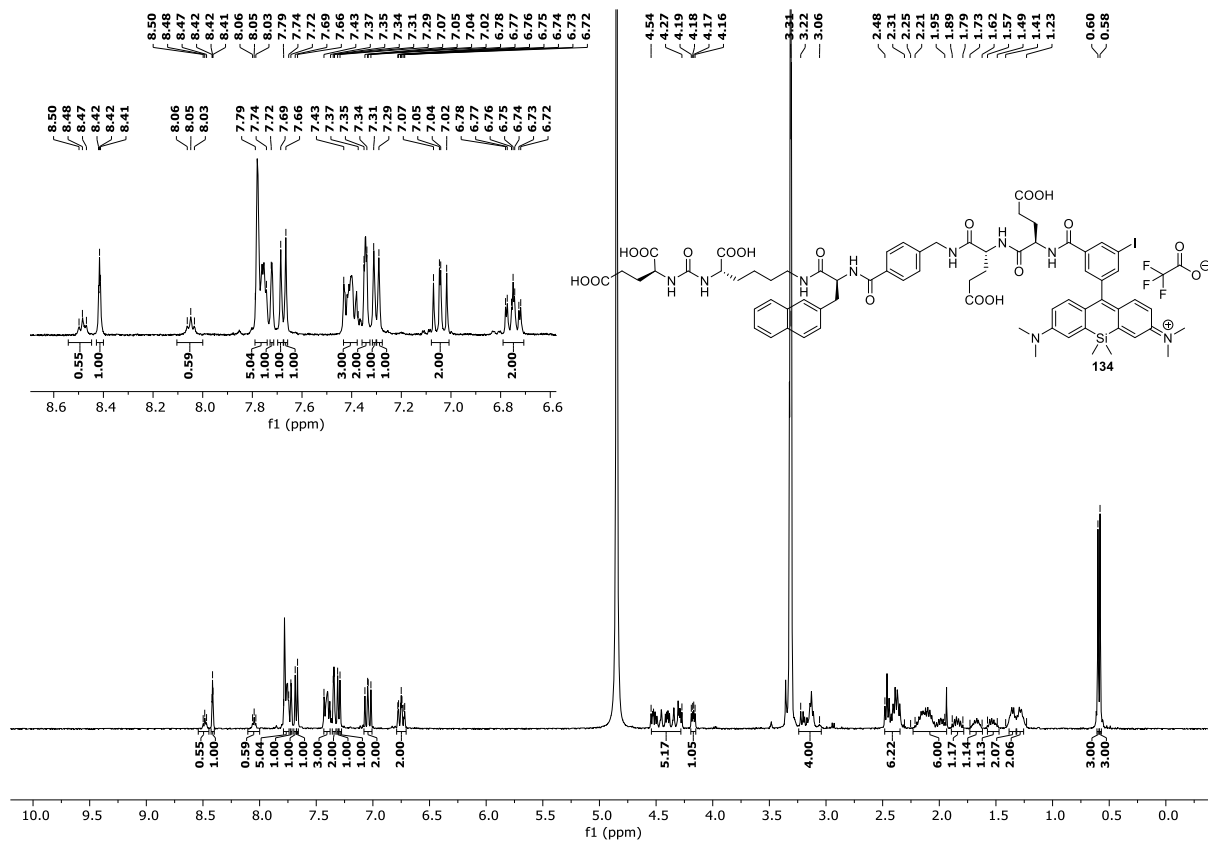
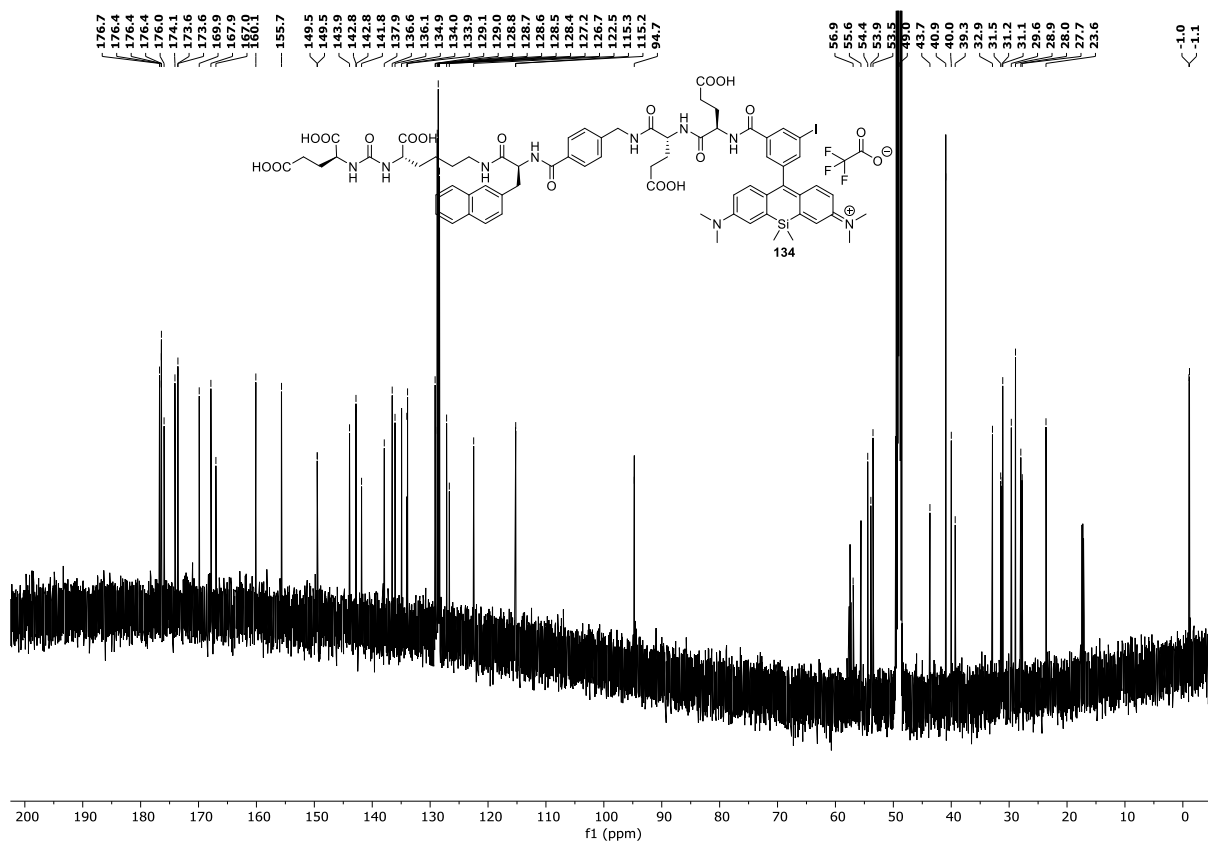
Abbildung 110: ^{19}F -NMR-Spektrum von **118** in Methanol- d_4 (376 MHz, 300 K).Abbildung 111: ^1H -NMR-Spektrum von **124** in Methanol- d_4 (400 MHz, 300 K).

Abbildung 112: ¹³C-NMR-Spektrum von **124** in Methanol-*d*₄ (101 MHz, 300 K).Abbildung 113: ¹H-NMR-Spektrum von **128** in Methanol-*d*₄ (400 MHz, 300 K).

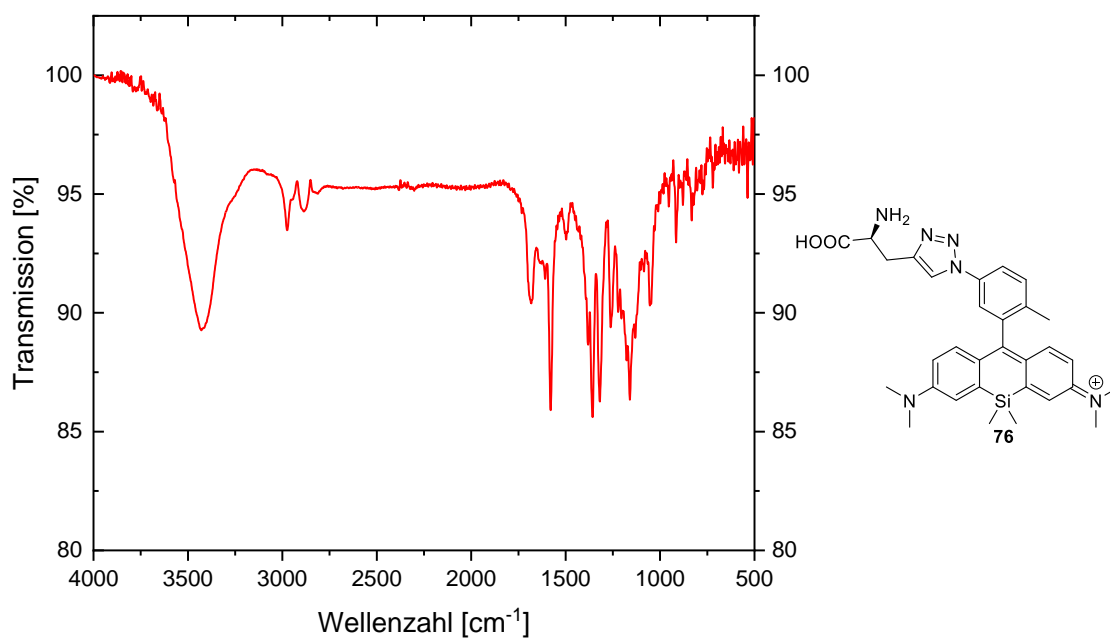
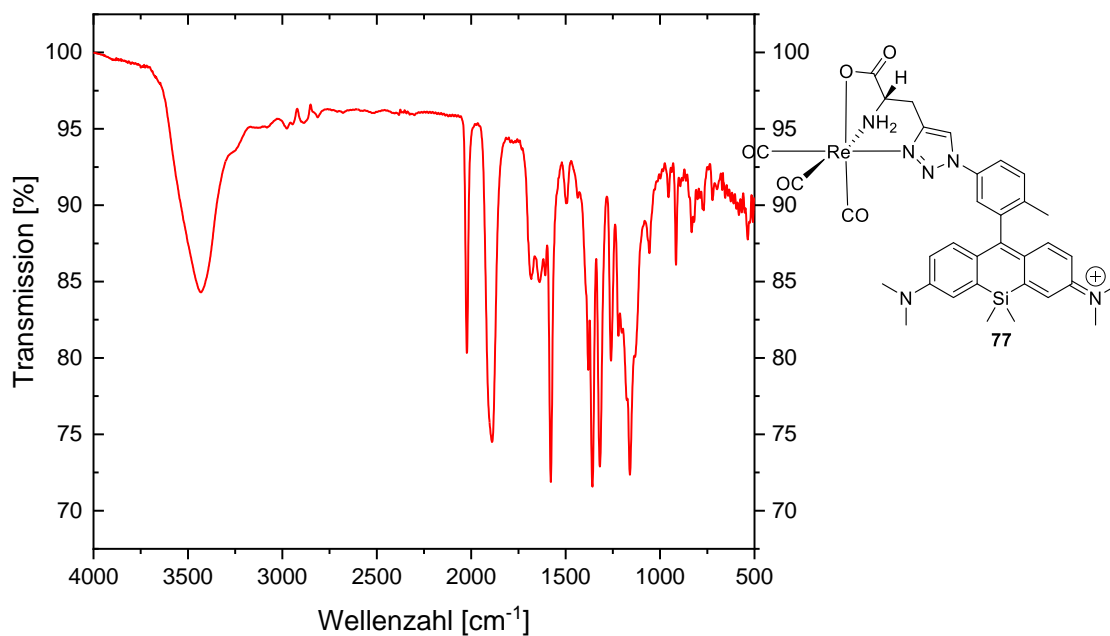
Abbildung 114: ^{13}C -NMR-Spektrum von **128** in Methanol- d_4 (101 MHz, 300 K).Abbildung 115: ^{19}F -NMR-Spektrum von **128** in Methanol- d_4 (376 MHz, 300 K).

Abbildung 116: ^1H -NMR-Spektrum von **130** in Methanol- d_4 (600 MHz, 300 K).Abbildung 117: ^{13}C -NMR-Spektrum von **130** in Methanol- d_4 (101 MHz, 300 K).

Abbildung 118: ¹H-NMR-Spektrum von **132** in Chloroform-*d* (400 MHz, 300 K).Abbildung 119: ¹³C-NMR-Spektrum von **132** in Chloroform-*d* (101 MHz, 300 K).

Abbildung 120: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **134** in Methanol- d_4 (400 MHz, 300 K).Abbildung 121: $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum von **134** in Methanol- d_4 (101 MHz, 300 K).

6.2 IR-Spektren

Abbildung 122: IR-Spektrum von **76** gemessen in einem Kaliumbromid-Pressling.Abbildung 123: IR-Spektrum von **77** gemessen in einem Kaliumbromid-Pressling.

6.3 MALDI-MS-Spektrum von Si-Rhodamin 134

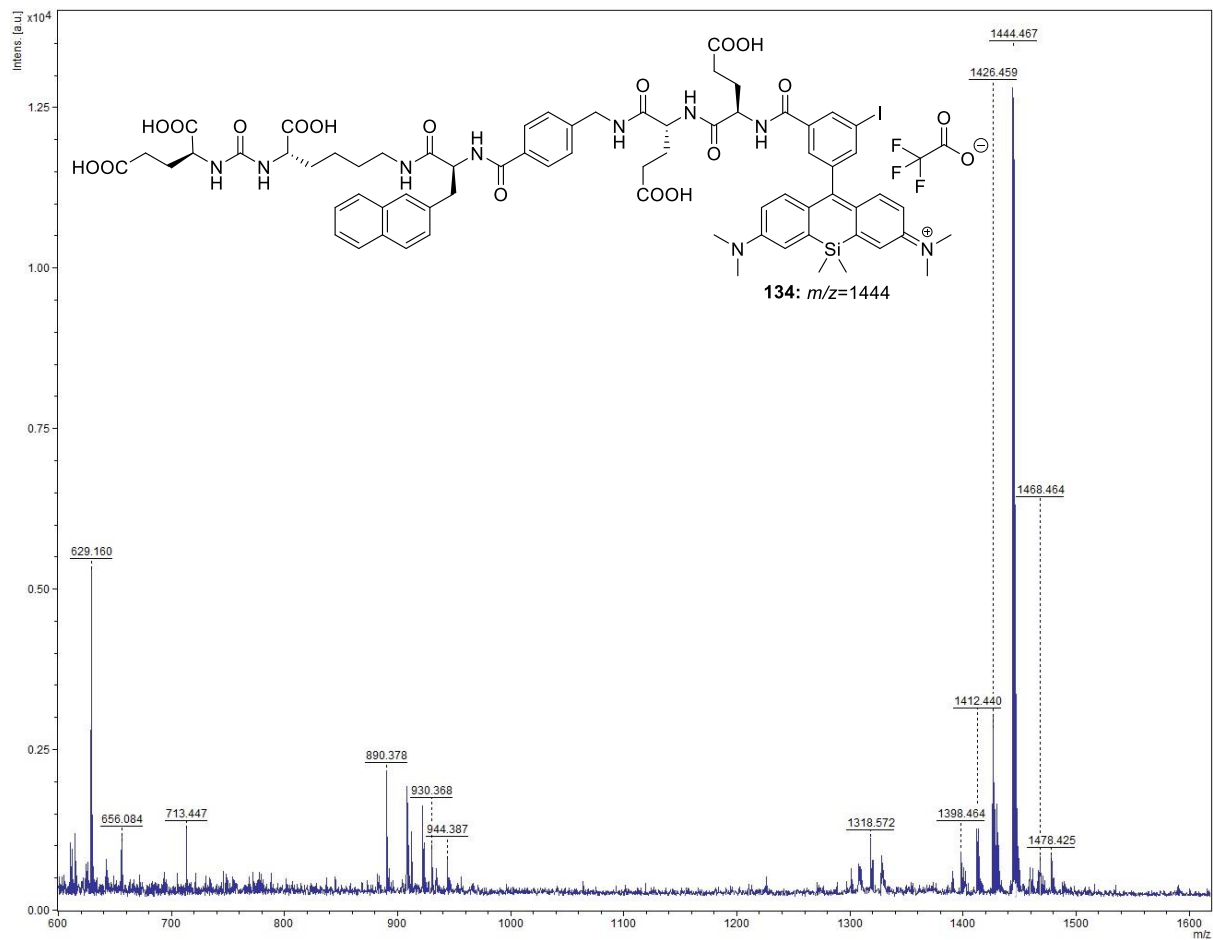


Abbildung 124: MALDI-MS von **134** mit α -Cyano-4-hydroxymzimtsäure als Matrix. Aufgenommen von Dr. Kristof Zarschler (Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf, Institut für Radiopharmazeutische Krebsforschung, Abteilung für Radionuklid-Theragnostika).

6.4 UV-Vis-NIR Spektren von ausgewählten Si-Rhodaminen

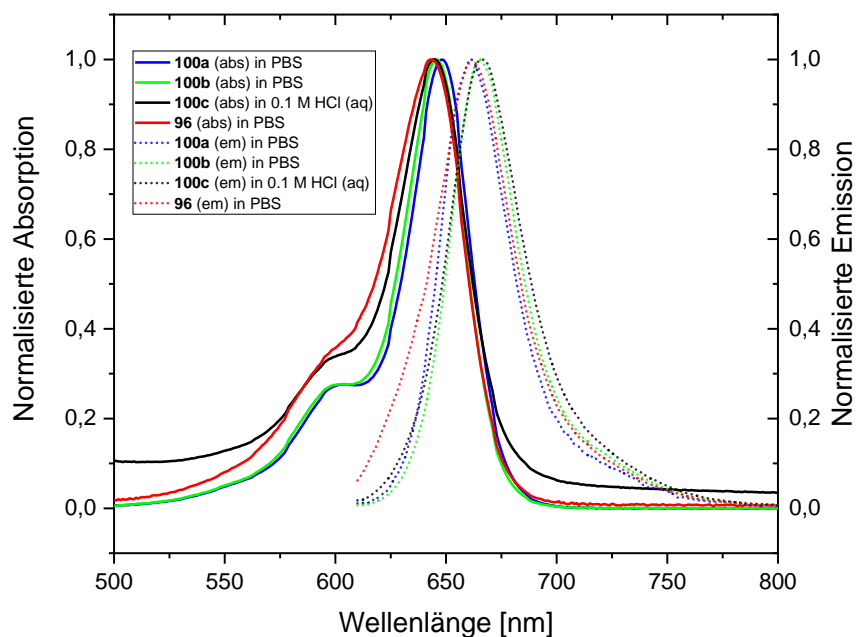


Abbildung 125: Überblick der normalisierten UV-Vis-NIR-Absorptions- und Emissionsspektren von **96** und **100a–100c** in PBS und in 0.1 M HCl (aq) bei Raumtemperatur ($\lambda_{\text{Anregung}}=600$ nm).

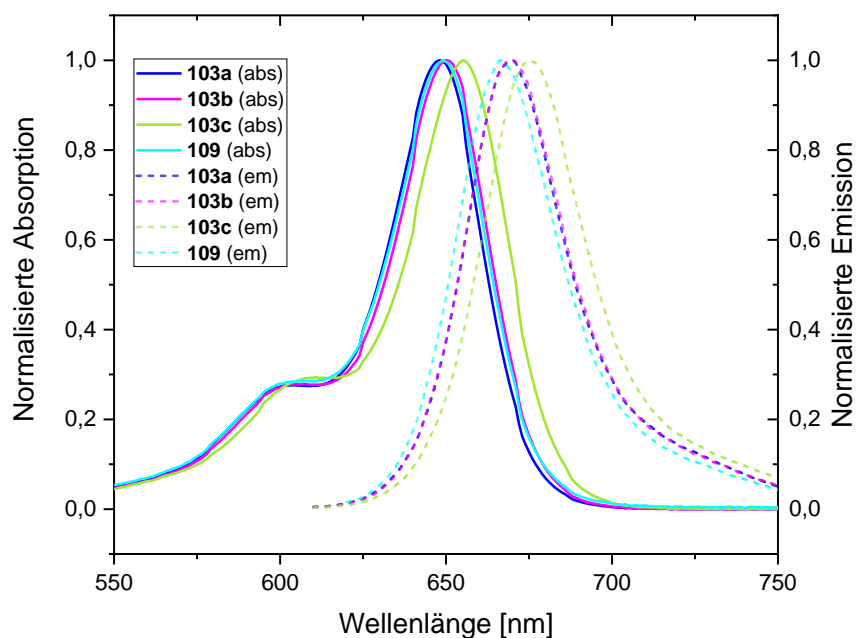


Abbildung 126: Überblick der normalisierten UV-Vis-NIR-Absorptions- und Emissionsspektren von **103a–103c** und **109** in PBS bei Raumtemperatur ($\lambda_{\text{Anregung}}=600$ nm).

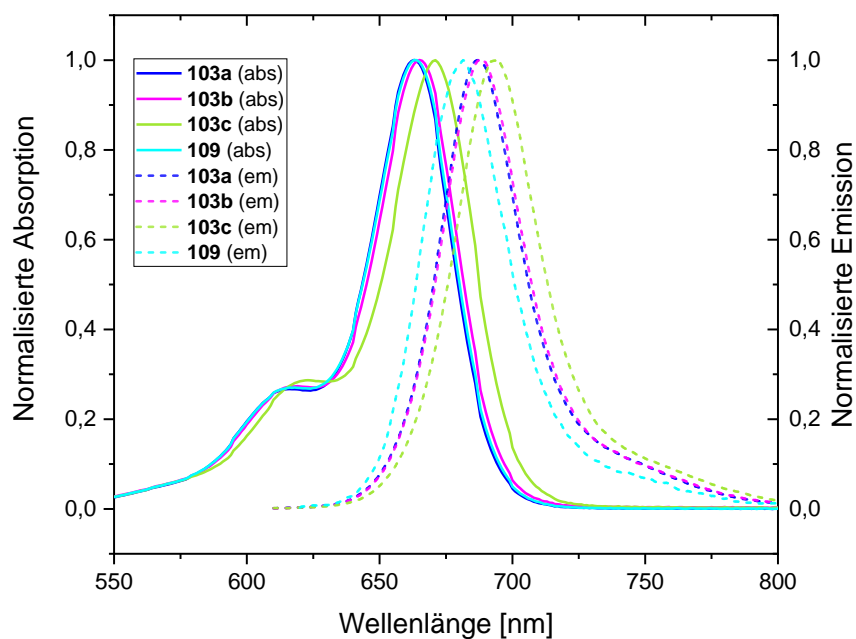


Abbildung 127: Überblick der normalisierten UV-Vis-NIR-Absorptions- und Emissionsspektren von **103a–103c** und **109** in DMSO bei Raumtemperatur ($\lambda_{\text{Anregung}}=600$ nm).

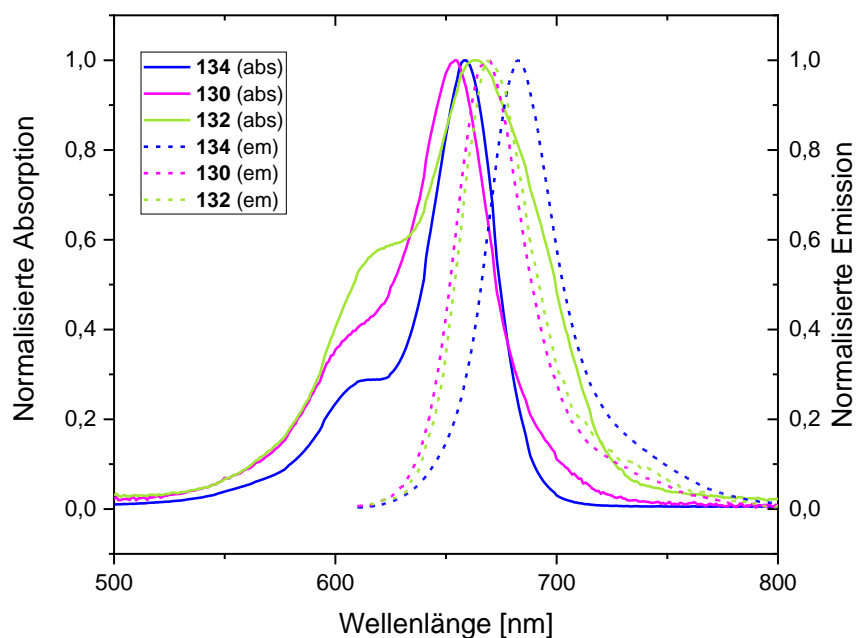


Abbildung 128: Überblick der normalisierten UV-Vis-NIR-Absorptions- und Emissionsspektren von **130, 132** und **134** in PBS bei Raumtemperatur ($\lambda_{\text{Anregung}}=600$ nm).

7. Literatur

- [1] F. Bray, J. Ferlay, I. Soerjomataram, R. L. Siegel, L. A. Torre, A. Jemal, *CA Cancer J. Clin.* **2018**, *68*, 394–424.
- [2] J. Bruns, K. Mugele, F. Wenz, *Forum* **2019**, *34*, 512–515.
- [3] National Cancer Institute at the National Institutes of Health, <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment>, **aufgerufen: 19.11.2021**.
- [4] M. Dietlein, K. Kopka, M. Schmidt, *Nuklearmedizin: Basiswissen und klinische Anwendung*, Schattauer GmbH, Stuttgart, **2017**.
- [5] S. M. Ametamey, M. Honer, P. A. Schubiger, *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 1501–1516.
- [6] D. van der Born, A. Pees, A. J. Poot, R. V. A. Orru, A. D. Windhorst, D. J. Vugts, *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46*, 4709–4773.
- [7] W. Wadsak, M. Mitterhauser, *Eur. J. Radiol.* **2010**, *73*, 461–469.
- [8] D. E. Large, J. R. Soucy, J. Hebert, D. T. Auguste, *Adv. Ther.* **2019**, *2*.
- [9] S. Liu, *Mol. Pharm.* **2006**, *3*, 472–487.
- [10] K. Vermeulen, M. Vandamme, G. Bormans, F. Cleeren, *Semin. Nucl. Med.* **2019**, *49*, 339–356.
- [11] P. W. Miller, N. J. Long, R. Vilar, A. D. Gee, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2008**, *47*, 8998–9033.
- [12] S. Vallabhajosula, *Molecular Imaging: Pharmacokinetics and Modeling*, Springer, Berlin, Heidelberg, **2009**.
- [13] M. Pretze, P. Grosse-Gehling, C. Mamat, *Molecules* **2011**, *16*, 1129–1165.
- [14] O. Jacobson, D. O. Kiesewetter, X. Chen, *Bioconjugate Chem.* **2015**, *26*, 1–18.
- [15] M. A. Klenner, G. Pascali, M. Massi, B. H. Fraser, *Chem. Eur. J.* **2020**.
- [16] T. Ido, C. N. Wan, V. Casella, J. S. Fowler, A. P. Wolf, M. Reivich, D. E. Kuhl, *J. Label. Compd. Radiopharm.* **1978**, *14*, 175–183.
- [17] J. S. Fowler, T. Ido, *Semin. Nucl. Med.* **2002**, *32*, 6–12.
- [18] E. K. J. Pauwels, M. J. Ribeiro, J. H. M. B. Stoot, V. R. McCready, M. Bourguignon, B. Mazière, *Nucl. Med. Biol.* **1998**, *25*, 317–322.
- [19] J. Cardinale, M. Schäfer, M. Benešová, U. Bauder-Wüst, K. Leotta, M. Eder, O. C. Neels, U. Haberkorn, F. L. Giesel, K. Kopka, *J. Nucl. Med.* **2017**, *58*, 425–431.
- [20] P. D. Shreve, Y. Anzai, R. L. Wahl, *Radiographics* **1999**, *19*, 61–77; quiz 150–151.
- [21] S. Ben-Haim, E. Kupzov, A. Tamir, O. Israel, *J. Nucl. Med.* **2004**, *45*, 1816–1821.
- [22] A. Afshar-Oromieh, J. W. Babich, C. Kratochwil, F. L. Giesel, M. Eisenhut, K. Kopka, U. Haberkorn, *J. Nucl. Med.* **2016**, *57*, 79S–89S.

- [23] K. Kopka, M. Benešová, C. Barinka, U. Haberkorn, J. Babich, *J. Nucl. Med.* **2017**, *58*, 17S–26S.
- [24] J. Cardinale, M. Roscher, M. Schäfer, M. Geerlings, M. Benešová, U. Bauder-Wüst, Y. Remde, M. Eder, Z. Novakova, L. Motlova, C. Barinka, F. L. Giesel, K. Kopka, *J. Med. Chem.* **2020**, *63*, 10897–10907.
- [25] S. R. Banerjee, C. A. Foss, M. Castanares, R. C. Mease, Y. Byun, J. J. Fox, J. Hilton, S. E. Lupold, A. P. Kozikowski, M. G. Pomper, *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 4504–4517.
- [26] M. Eder, M. Schäfer, U. Bauder-Wüst, W. E. Hull, C. Wängler, W. Mier, U. Haberkorn, M. Eisenhut, *Bioconjugate Chem.* **2012**, *23*, 688–697.
- [27] S. R. Banerjee, M. Pullambhatla, C. A. Foss, S. Nimmagadda, R. Ferdani, C. J. Anderson, R. C. Mease, M. G. Pomper, *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 2657–2669.
- [28] E. Gourni, C. Canovas, V. Goncalves, F. Denat, P. T. Meyer, H. R. Maecke, *PLoS One* **2015**, *10*, e0145755.
- [29] C. Müller, R. Schibli, *Der Nuklearmediziner* **2018**, *41*, 326–334.
- [30] M. Mix, K. Reichel, C. Stoykow, M. Bartholoma, V. Drendel, E. Gourni, U. Wetterauer, W. Schultze-Seemann, P. T. Meyer, C. A. Jilg, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2018**, *45*, 2062–2070.
- [31] J. Carlos Dos Santos, B. Beijer, U. Bauder-Wüst, M. Schäfer, K. Leotta, M. Eder, M. Benešová, C. Kleist, F. Giesel, C. Kratochwil, K. Kopka, U. Haberkorn, W. Mier, *J. Nucl. Med.* **2020**, *61*, 70–79.
- [32] C. M. Zechmann, A. Afshar-Oromieh, T. Armor, J. B. Stubbs, W. Mier, B. Hadaschik, J. Joyal, K. Kopka, J. Debus, J. W. Babich, U. Haberkorn, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2014**, *41*, 1280–1292.
- [33] C. Kratochwil, F. L. Giesel, M. Stefanova, M. Benešová, M. Bronzel, A. Afshar-Oromieh, W. Mier, M. Eder, K. Kopka, U. Haberkorn, *J. Nucl. Med.* **2016**, *57*, 1170–1176.
- [34] C. Kratochwil, F. Bruchertseifer, F. L. Giesel, M. Weis, F. A. Verburg, F. Mottaghy, K. Kopka, C. Apostolidis, U. Haberkorn, A. Morgenstern, *J. Nucl. Med.* **2016**, *57*, 1941–1944.
- [35] R. P. Baum, H. R. Kulkarni, C. Schuchardt, A. Singh, M. Wirtz, S. Wiessalla, M. Schottelius, D. Mueller, I. Klette, H. J. Wester, *J. Nucl. Med.* **2016**, *57*, 1006–1013.
- [36] M. Sathekge, O. Knoesen, M. Meckel, M. Modiselle, M. Vorster, S. Marx, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2017**, *44*, 1099–1100.
- [37] J. C. Dos Santos, M. Schäfer, U. Bauder-Wüst, W. Lehnert, K. Leotta, A. Morgenstern, K. Kopka, U. Haberkorn, W. Mier, C. Kratochwil, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2019**, *46*, 1081–1091.

- [38] J. M. Kelly, S. Ponnala, A. Amor-Coarasa, N. A. Zia, A. Nikolopoulou, C. Williams, Jr., D. J. Schlyer, S. G. DiMugno, P. S. Donnelly, J. W. Babich, *Mol. Pharm.* **2020**, *17*, 1954–1962.
- [39] M. D. Bartholoma, A. S. Louie, J. F. Valliant, J. Zubieta, *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 2903–2920.
- [40] I. M. Cohen, A. Robles, P. Mendoza, R. M. Airas, E. H. Montoya, *Appl. Radiat. Isot.* **2018**, *135*, 207–211.
- [41] E. Boros, A. B. Packard, *Chem. Rev.* **2019**, *119*, 870–901.
- [42] A. Sanchez-Crespo, P. Andreo, S. A. Larsson, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2004**, *31*, 44–51.
- [43] S. R. Banerjee, M. G. Pomper, *Appl. Radiat. Isot.* **2013**, *76*, 2–13.
- [44] A. Boschi, P. Martini, E. Janevik-Ivanovska, A. Duatti, *Drug Discov. Today* **2018**, *23*, 1489–1501.
- [45] C. J. Anderson, R. Ferdani, *Cancer Biother. Radiopharm.* **2009**, *24*, 379–393.
- [46] E. B. Silberstein, *Semin. Nucl. Med.* **2012**, *42*, 164–170.
- [47] J. G. Hamilton, M. H. Soley, *American Journal of Physiology-Legacy Content* **1939**, *127*, 557–572.
- [48] J. G. Hamilton, M. H. Soley, *American Journal of Physiology-Legacy Content* **1940**, *131*, 135–143.
- [49] J. G. Hamilton, J. H. Lawrence, *J. Clin. Investig.* **1942**, *21*, 624.
- [50] D. E. Clark, R. H. Moe, E. E. Adams, *Surgery* **1949**, *26*, 331–340.
- [51] W. H. Beierwaltes, *Semin. Nucl. Med.* **1979**, *9*, 151–155.
- [52] M. Stabin, *Phys. Med. Biol.* **2006**, *51*, R187.
- [53] M. E. Fassbender, *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 340.
- [54] J. Pellico, P. J. Gawne, T. M. d. R. R., *Chem. Soc. Rev.* **2021**.
- [55] R. Weissleder, U. Mahmood, *Radiology* **2001**, *219*, 316–333.
- [56] R. Weissleder, *Science* **2006**, *312*, 1168–1171.
- [57] J. K. Willmann, N. van Bruggen, L. M. Dinkelborg, S. S. Gambhir, *Nat. Rev. Drug. Discov.* **2008**, *7*, 591–607.
- [58] U. Haberkorn, M. Eisenhut, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2005**, *32*, 1354–1359.
- [59] O. Dössel, *Bildgebung in der Medizin*, Springer, Berlin, Heidelberg, **2016**.
- [60] C. S. Levin, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2005**, *32*, S325–S345.
- [61] C. M. Pepin, P. Berard, A. L. Perrot, C. Pepin, D. Houde, R. Lecomte, C. L. Melcher, H. Dautet, *IEEE Trans. Nucl. Sci.* **2004**, *51*, 789–795.
- [62] V. Spanoudaki, A. Mann, A. Otte, I. Konorov, I. Torres-Espallardo, S. Paul, S. Ziegler, *J. Instrum.* **2007**, *2*, P12002.

- [63] A. J. González, A. Aguilar, P. Conde, L. Hernández, L. Moliner, L. F. Vidal, F. Sánchez, S. Sánchez, C. Correcher, C. Molinos, *IEEE Trans. Nucl. Sci.* **2016**, *63*, 2471–2477.
- [64] D. L. Nosco, J. A. Beaty-Nosco, *Coord. Chem. Rev.* **1999**, *184*, 91–123.
- [65] J. L. Hickey, P. S. Donnelly, *Coord. Chem. Rev.* **2012**, *256*, 2367–2380.
- [66] K. Marten, C. Bremer, K. Khazaie, M. Sameni, B. Sloane, C. H. Tung, R. Weissleder, *Gastroenterology* **2002**, *122*, 406–414.
- [67] Y. Hama, Y. Urano, Y. Koyama, M. Kamiya, M. Bernardo, R. S. Paik, M. C. Krishna, P. L. Choyke, H. Kobayashi, *Neoplasia* **2006**, *8*, 607–IN602.
- [68] H. Kobayashi, M. Ogawa, R. Alford, P. L. Choyke, Y. Urano, *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 2620–2640.
- [69] U. Seibold, B. Wängler, R. Schirrmacher, C. Wängler, *Biomed Res. Int.* **2014**, *2014*, 153741.
- [70] J. Culver, W. Akers, S. Achilefu, *J. Nucl. Med.* **2008**, *49*, 169–172.
- [71] R. Weissleder, *Nat. Biotechnol.* **2001**, *19*, 316–317.
- [72] G. D. Luker, K. E. Luker, *J. Nucl. Med.* **2008**, *49*, 1–4.
- [73] O. T. Bruns, T. S. Bischof, D. K. Harris, D. Franke, Y. Shi, L. Riedemann, A. Bartelt, F. B. Jaworski, J. A. Carr, C. J. Rowlands, *Nature Biomed. Eng.* **2017**, *1*, 1–11.
- [74] E. D. Cosco, J. R. Caram, O. T. Bruns, D. Franke, R. A. Day, E. P. Farr, M. G. Bawendi, E. M. Sletten, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2017**, *56*, 13126–13129.
- [75] J. A. Carr, D. Franke, J. R. Caram, C. F. Perkinson, M. Saif, V. Askoxylakis, M. Datta, D. Fukumura, R. K. Jain, M. G. Bawendi, O. T. Bruns, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2018**, *115*, 4465–4470.
- [76] P. Debbage, W. Jaschke, *Histochem. Cell Biol.* **2008**, *130*, 845–875.
- [77] M. L. James, S. S. Gambhir, *Physiol Rev* **2012**, *92*, 897–965.
- [78] V. Ntziachristos, J. Ripoll, R. Weissleder, *Opt. Lett.* **2002**, *27*, 333–335.
- [79] D. J. Hawrysz, E. M. Sevick-Muraca, *Neoplasia* **2000**, *2*, 388–417.
- [80] M. V. Marshall, J. C. Rasmussen, I. C. Tan, M. B. Aldrich, K. E. Adams, X. Wang, C. E. Fife, E. A. Maus, L. A. Smith, E. M. Sevick-Muraca, *Open Surg. Oncol. J.* **2010**, *2*, 12–25.
- [81] M. Hope-Ross, L. A. Yannuzzi, E. S. Gragoudas, D. R. Guyer, J. S. Slakter, J. A. Sorenson, S. Krupsky, D. A. Orlock, C. A. Puliafito, *Ophthalmology* **1994**, *101*, 529–533.
- [82] P. W. Atkins, J. De Paula, *Physikalische Chemie*, Wiley-VCH, Weinheim, **2013**.
- [83] K. K. Ng, G. Zheng, *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 11012–11042.
- [84] H. Goesmann, C. Feldmann, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2010**, *49*, 1362–1395.
- [85] Y. Wang, L. Chen, *Nanomedicine* **2011**, *7*, 385–402.

- [86] M. J. Ruedas-Rama, J. D. Walters, A. Orte, E. A. Hall, *Anal. Chim. Acta.* **2012**, *751*, 1–23.
- [87] T. Liu, Z. Xu, D. R. Spring, J. Cui, *Org. Lett.* **2013**, *15*, 2310–2313.
- [88] G. Lukinavičius, L. Reymond, E. D'Este, A. Masharina, F. Gottfert, H. Ta, A. Guther, M. Fournier, S. Rizzo, H. Waldmann, C. Blaukopf, C. Sommer, D. W. Gerlich, H. D. Arndt, S. W. Hell, K. Johnsson, *Nat. Methods* **2014**, *11*, 731–733.
- [89] J. Matthias, T. Kanagasundaram, K. Kopka, C. S. Kramer, *Beilstein J. Org. Chem.* **2019**, *15*, 2333–2343.
- [90] J. K. Sugden, *Biotech. Histochem.* **2004**, *79*, 71–90.
- [91] B. N. Giepmans, S. R. Adams, M. H. Ellisman, R. Y. Tsien, *Science* **2006**, *312*, 217–224.
- [92] S. Zhu, Q. Yang, A. L. Antaris, J. Yue, Z. Ma, H. Wang, W. Huang, H. Wan, J. Wang, S. Diao, B. Zhang, X. Li, Y. Zhong, K. Yu, G. Hong, J. Luo, Y. Liang, H. Dai, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2017**, *114*, 962–967.
- [93] S. Luo, E. Zhang, Y. Su, T. Cheng, C. Shi, *Biomaterials* **2011**, *32*, 7127–7138.
- [94] M. Z. Lin, M. R. McKeown, H. L. Ng, T. A. Aguilera, N. C. Shaner, R. E. Campbell, S. R. Adams, L. A. Gross, W. Ma, T. Alber, R. Y. Tsien, *Chem. Biol.* **2009**, *16*, 1169–1179.
- [95] Q. Cao, N. G. Zhegalova, S. T. Wang, W. J. Akers, M. Y. Berezin, *J. Biomed. Opt.* **2013**, *18*, 101318.
- [96] E. Hemmer, A. Benayas, F. Legare, F. Vetrone, *Nanoscale Horiz.* **2016**, *1*, 168–184.
- [97] G. Choy, P. Choyke, S. K. Libutti, *Mol. Imaging* **2003**, *2*.
- [98] S. A. Hilderbrand, R. Weissleder, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2010**, *14*, 71–79.
- [99] K. Umezawa, Y. Nakamura, H. Makino, D. Citterio, K. Suzuki, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 1550–1551.
- [100] J. O. Escobedo, O. Rusin, S. Lim, R. M. Strongin, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2010**, *14*, 64–70.
- [101] N. Zheng, H. N. Tsai, X. Zhang, G. R. Rosania, *Mol. Pharm.* **2011**, *8*, 1619–1628.
- [102] L. van Manen, H. J. M. Handgraaf, M. Diana, J. Dijkstra, T. Ishizawa, A. L. Vahrmeijer, J. S. D. Mieog, *J. Surg. Oncol.* **2018**, *118*, 283–300.
- [103] A. Treibs, F.-H. Kreuzer, *Liebigs Ann.* **1968**, *718*, 208–223.
- [104] V. Sancho, A. Di Florio, T. W. Moody, R. T. Jensen, *Curr. Drug Deliv.* **2011**, *8*, 79–134.
- [105] S. Krajcovicova, J. Stankova, P. Dzubak, M. Hajduch, M. Soral, M. Urban, *Chem. Eur. J.* **2018**, *24*, 4957–4966.
- [106] T. Stemler, C. Hoffmann, I. M. Hierlmeier, S. Maus, E. Krause, S. Ezziddin, G. Jung, M. D. Bartholomä, *ChemMedChem* **2021**.
- [107] W. Zhao, E. M. Carreira, *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 7254–7263.

- [108] A. Loudet, K. Burgess, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 4891–4932.
- [109] N. Boens, V. Leen, W. Dehaen, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 1130–1172.
- [110] A. Kamkaew, S. H. Lim, H. B. Lee, L. V. Kiew, L. Y. Chung, K. Burgess, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 77–88.
- [111] R. Sjöback, J. Nygren, M. Kubista, *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* **1995**, *51*, L7–L21.
- [112] D. H. Alamdari, A. B. Moghaddam, S. Amini, M. R. Keramati, A. M. Zarmehri, A. H. Alamdari, M. Damsaz, H. Banpour, A. Yarahmadi, G. Koliakos, *Eur. J. Pharmacol.* **2020**, *885*, 173494.
- [113] M. Gendrot, J. Andreani, I. Dufлот, M. Boxberger, M. Le Bideau, J. Mosnier, P. Jardot, I. Fonta, C. Rolland, H. Bogreau, S. Hutter, B. La Scola, B. Pradines, *Int. J. Antimicrob. Agents* **2020**, *56*, 106202.
- [114] A. Treibs, K. Jacob, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1965**, *4*, 694–694.
- [115] L. Hu, Z. Yan, H. Xu, *RSC Adv.* **2013**, *3*, 7667–7676.
- [116] S. Sreejith, P. Carol, P. Chithra, A. Ajayaghosh, *J. Mater. Chem.* **2008**, *18*, 264–274.
- [117] B. Ballou, L. A. Ernst, A. S. Waggoner, *Curr. Med. Chem.* **2005**, *12*, 795–805.
- [118] H. Shindy, *Dyes Pigm.* **2017**, *145*, 505–513.
- [119] J. T. Alander, I. Kaartinen, A. Laakso, T. Patila, T. Spillmann, V. V. Tuchin, M. Venermo, P. Valisuo, *Int. J. Biomed. Imaging* **2012**, *2012*, 940585.
- [120] T. Karstens, K. Kobs, *J. Phys. Chem.* **2002**, *84*, 1871–1872.
- [121] M. Ceresole, German Patent No. 44002, **1887**.
- [122] J. Mohanty, W. M. Nau, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2005**, *44*, 3750–3754.
- [123] M. Beija, C. A. Afonso, J. M. Martinho, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 2410–2433.
- [124] S. J. Dwight, S. Levin, *Org. Lett.* **2016**, *18*, 5316–5319.
- [125] M. S. Goncalves, *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 190–212.
- [126] L. Wang, W. Du, Z. Hu, K. Uvdal, L. Li, W. Huang, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2019**, *58*, 14026–14043.
- [127] L. Yuan, W. Lin, K. Zheng, L. He, W. Huang, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 622–661.
- [128] M. Fu, Y. Xiao, X. Qian, D. Zhao, Y. Xu, *Chem. Commun.* **2008**, 1780–1782.
- [129] R. Ramette, E. Sandell, *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, *78*, 4872–4878.
- [130] R. F. Kubin, A. N. Fletcher, *J. Lumin.* **1982**, *27*, 455–462.
- [131] Y. Koide, Y. Urano, K. Hanaoka, T. Terai, T. Nagano, *ACS Chem. Biol.* **2011**, *6*, 600–608.
- [132] Y. Koide, Y. Urano, K. Hanaoka, W. Piao, M. Kusakabe, N. Saito, T. Terai, T. Okabe, T. Nagano, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 5029–5031.
- [133] T. Egawa, Y. Koide, K. Hanaoka, T. Komatsu, T. Terai, T. Nagano, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 4162–4164.

- [134] Y. Kushida, T. Nagano, K. Hanaoka, *Analyst* **2015**, *140*, 685–695.
- [135] T. Ikeno, T. Nagano, K. Hanaoka, *Chem. Asian J.* **2017**, *12*, 1435–1446.
- [136] S. Yamaguchi, K. Tamao, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1998**, 3693–3702.
- [137] T. Y. Ohulchanskyy, D. J. Donnelly, M. R. Detty, P. N. Prasad, *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 8668–8672.
- [138] B. Calitree, D. J. Donnelly, J. J. Holt, M. K. Gannon, C. L. Nygren, D. K. Sukumaran, J. Autschbach, M. R. Detty, *Organometallics* **2007**, *26*, 6248–6257.
- [139] M. W. Kryman, G. A. Schamerhorn, K. Yung, B. Sathyamoorthy, D. K. Sukumaran, T. Y. Ohulchanskyy, J. B. Benedict, M. R. Detty, *Organometallics* **2013**, *32*, 4321–4333.
- [140] J. B. Grimm, A. J. Sung, W. R. Legant, P. Hulamm, S. M. Matlosz, E. Betzig, L. D. Lavis, *ACS Chem. Biol.* **2013**, *8*, 1303–1310.
- [141] M. W. Kryman, G. A. Schamerhorn, J. E. Hill, B. D. Calitree, K. S. Davies, M. K. Linder, T. Y. Ohulchanskyy, M. R. Detty, *Organometallics* **2014**, *33*, 2628–2640.
- [142] X. Chai, X. Cui, B. Wang, F. Yang, Y. Cai, Q. Wu, T. Wang, *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 16754–16758.
- [143] J. Liu, Y. Q. Sun, H. Zhang, H. Shi, Y. Shi, W. Guo, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2016**, *8*, 22953–22962.
- [144] T. Hirayama, A. Mukaimine, K. Nishigaki, H. Tsuboi, S. Hirose, K. Okuda, M. Ebihara, H. Nagasawa, *Dalton Trans.* **2017**, *46*, 15991–15995.
- [145] X. Zhou, L. Lesiak, R. Lai, J. R. Beck, J. Zhao, C. G. Elowsky, H. Li, C. I. Stains, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2017**, *56*, 4197–4200.
- [146] F. Deng, Z. Xu, *Chin. Chem. Lett.* **2019**, *30*, 1667–1681.
- [147] M. Li, Y. Li, X. Wang, X. Cui, T. Wang, *Chin. Chem. Lett.* **2019**, *30*, 1682–1688.
- [148] T. W. Goodwin, R. A. Morton, *Biochem. J.* **1946**, *40*, 628–632.
- [149] T. Ichikawa, H. Terada, *Biochimica et Biophysica Acta.* **1977**, *494*, 267–270.
- [150] J. B. Grimm, T. A. Brown, A. N. Tkachuk, L. D. Lavis, *ACS Cent. Sci.* **2017**, *3*, 975–985.
- [151] C. Fischer, C. Sparr, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2018**, *57*, 2436–2440.
- [152] B. Wang, X. Chai, W. Zhu, T. Wang, Q. Wu, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 14374–14377.
- [153] G. Lukinavičius, K. Umezawa, N. Olivier, A. Honigmann, G. Yang, T. Plass, V. Mueller, L. Reymond, I. R. Correa, Jr., Z. G. Luo, C. Schultz, E. A. Lemke, P. Heppenstall, C. Eggeling, S. Manley, K. Johnsson, *Nat. Chem.* **2013**, *5*, 132–139.
- [154] G. Lukinavičius, L. Reymond, K. Umezawa, O. Sallin, E. D'Este, F. Gottfert, H. Ta, S. W. Hell, Y. Urano, K. Johnsson, *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 9365–9368.
- [155] A. N. Butkevich, *Org. Lett.* **2021**, *23*, 2604–2609.
- [156] H. N. Kim, M. H. Lee, H. J. Kim, J. S. Kim, J. Yoon, *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37*, 1465–1472.

- [157] S. N. Uno, M. Kamiya, T. Yoshihara, K. Sugawara, K. Okabe, M. C. Tarhan, H. Fujita, T. Funatsu, Y. Okada, S. Tobita, Y. Urano, *Nat. Chem.* **2014**, *6*, 681–689.
- [158] T. Wang, Q. J. Zhao, H. G. Hu, S. C. Yu, X. Liu, L. Liu, Q. Y. Wu, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 8781–8783.
- [159] R. Wirth, P. Gao, G. U. Nienhaus, M. Sunbul, A. Jaschke, *J. Am. Chem. Soc.* **2019**, *141*, 7562–7571.
- [160] R. Weissleder, M. J. Pittet, *Nature* **2008**, *452*, 580–589.
- [161] V. Dilsizian, R. Taillefer, *JACC: Cardiovasc. Imaging* **2012**, *5*, 1269–1284.
- [162] P. J. Slomka, T. Pan, D. S. Berman, G. Germano, *Prog. Cardiovasc. Dis.* **2015**, *57*, 566–578.
- [163] D. Barolet, *Semin. Cutan. Med. Surg.* **2008**, *27*, 227–238.
- [164] E. Ruggiero, S. Alonso-de Castro, A. Habtemariam, L. Salassa, *Dalton Trans.* **2016**, *45*, 13012–13020.
- [165] Q. Miao, K. Pu, *Adv. Mater.* **2018**, *30*, e1801778.
- [166] C. A. Metildi, S. Kaushal, M. Pu, K. A. Messer, G. A. Luiken, A. R. Moossa, R. M. Hoffman, M. Bouvet, *Ann. Surg. Oncol.* **2014**, *21*, 1405–1411.
- [167] L. Frullano, T. J. Meade, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2007**, *12*, 939–949.
- [168] L. E. Jennings, N. J. Long, *Chem. Commun.* **2009**, 3511–3524.
- [169] A. Louie, *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 3146–3195.
- [170] D. E. Lee, H. Koo, I. C. Sun, J. H. Ryu, K. Kim, I. C. Kwon, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 2656–2672.
- [171] R. T. de Rosales, *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2014**, *57*, 298–303.
- [172] T. Heinrich, F. Fahey, P. Dunning, E. Snay, S. Treves, A. Packard, *J. Nucl. Med.* **2008**, 302P.
- [173] V. Gottumukkala, T. K. Heinrich, A. Baker, P. Dunning, F. H. Fahey, S. T. Treves, A. B. Packard, *Nucl. Med. Biol.* **2010**, *37*, 365–370.
- [174] T. K. Heinrich, V. Gottumukkala, E. Snay, P. Dunning, F. H. Fahey, S. T. Treves, A. B. Packard, *Appl. Radiat. Isot.* **2010**, *68*, 96–100.
- [175] Z. Li, T.-P. Lin, S. Liu, C.-W. Huang, T. W. Hudnall, F. P. Gabbai, P. S. Conti, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 9324–9326.
- [176] E. R. Ranyuk, N. Cauchon, H. Ali, R. Lecomte, B. Guérin, J. E. van Lier, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 7470–7473.
- [177] J. A. Hendricks, E. J. Keliher, D. Wan, S. A. Hilderbrand, R. Weissleder, R. Mazitschek, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2012**, *51*, 4603–4606.
- [178] Z. Lu, T. T. Pham, V. Rajkumar, Z. Yu, R. B. Pedley, E. Årstad, J. Maher, R. Yan, *J. Med. Chem.* **2018**, *61*, 1636–1645.

- [179] H. Kommidi, H. Guo, F. Nurili, Y. Vedvyas, M. M. Jin, T. D. McClure, B. Ehdaie, H. B. Sayman, O. Akin, O. Aras, R. Ting, *J. Med. Chem.* **2018**, *61*, 4256–4262.
- [180] W. L. Turnbull, E. Murrell, M. Bulcan-Gnirss, M. Majeed, M. Milne, L. G. Luyt, *Dalton Trans.* **2019**, *48*, 14077–14084.
- [181] T. T. Pham, Z. Lu, C. Davis, C. Li, F. Sun, J. Maher, R. Yan, *Bioconjugate Chem.* **2020**, *31*, 1107–1116.
- [182] S. Liu, T.-P. Lin, D. Li, L. Leamer, H. Shan, Z. Li, F. P. Gabbai, P. S. Conti, *Theranostics* **2013**, *3*, 181.
- [183] S. Liu, D. Li, H. Shan, F. P. Gabbai, Z. Li, P. S. Conti, *Nucl. Med. Biol.* **2014**, *41*, 120–126.
- [184] E. J. Keliher, J. A. Klubnick, T. Reiner, R. Mazitschek, R. Weissleder, *ChemMedChem* **2014**, *9*, 1368.
- [185] B. Bertrand, K. Passador, C. Goze, F. Denat, E. Bodio, M. Salmain, *Coord. Chem. Rev.* **2018**, *358*, 108–124.
- [186] E. Bodio, F. Denat, C. Goze, *J. Porphyr. Phthalocyanines* **2019**, 116–140.
- [187] Y.-D. Kwon, Y. Byun, H.-K. Kim, *Nucl. Med. Biol.* **2020**.
- [188] T. S. Pitchumony, L. Banevicius, N. Janzen, J. Zubieta, J. F. Valliant, *Inorg. Chem.* **2013**, *52*, 13521–13528.
- [189] A. Yazdani, N. Janzen, L. Banevicius, S. Czorny, J. F. Valliant, *Inorg. Chem.* **2015**, *54*, 1728–1736.
- [190] M. Detty, B. Calitree, *Synlett* **2009**, *2010*, 89–92.
- [191] Y. Urano, M. Kamiya, K. Umezawa, M. Yoshida, WO/2015/129705, **2015**.
- [192] K. Umezawa, M. Yoshida, M. Kamiya, T. Yamasoba, Y. Urano, *Nat. Chem.* **2017**, *9*, 279–286.
- [193] R. Martin, S. L. Buchwald, *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 1461–1473.
- [194] A. J. Lennox, G. C. Lloyd-Jones, *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 412–443.
- [195] T. Kanagasundaram, *Masterarbeit*, Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, **2017**.
- [196] A. Timmermann, *Bachelorarbeit*, Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, **2018**.
- [197] C. S. Kramer, *German Cancer Research Center*, Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, **2019**.
- [198] T. Kanagasundaram, A. Timmermann, C. S. Kramer, K. Kopka, *Beilstein J. Org. Chem.* **2019**, *15*, 2569–2576.
- [199] D. C. Blakemore, P. M. Doyle, Y. M. Fobian, *Synthetic Methods in Drug Discovery: Volume 1*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, **2016**.
- [200] P. Shieh, M. S. Siegrist, A. J. Cullen, C. R. Bertozzi, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2014**, *111*, 5456–5461.
- [201] C. R. Bertozzi, P. Shieh, US9410958B2, **2015**.

- [202] N. Miyaura, A. Suzuki, *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 2457–2483.
- [203] G. Dijkstra, W. H. Kruizinga, R. M. Kellogg, *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 4230–4234.
- [204] P. W. van Leeuwen, P. C. Kamer, J. N. Reek, P. Dierkes, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 2741–2770.
- [205] B. R. Travis, M. Sivakumar, G. O. Hollist, B. Borhan, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 1031–1034.
- [206] E. Heyer, P. Lory, J. Leprince, M. Moreau, A. Romieu, M. Guardigli, A. Roda, R. Ziessel, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2015**, *54*, 2995–2999.
- [207] A. Godard, P. Rocca, V. Pomel, L. Thomas-dit-Dumont, J. C. Rovera, J. F. Thaburet, F. Marsais, G. Quéguiner, *J. Organomet. Chem.* **1996**, *517*, 25–36.
- [208] J. Hassan, M. Sevignon, C. Gozzi, E. Schulz, M. Lemaire, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 1359–1470.
- [209] E. M. Sletten, C. R. Bertozzi, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2009**, *48*, 6974–6998.
- [210] M. B. Haskali, A. L. Farnsworth, P. D. Roselt, C. A. Hutton, *RSC Med. Chem.* **2020**, *11*, 919–922.
- [211] J. E. Hein, V. V. Fokin, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 1302–1315.
- [212] T. Watanabe, N. Miyaura, A. Suzuki, *Synlett* **1992**, *1992*, 207–210.
- [213] K. L. Billingsley, S. L. Buchwald, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2008**, *47*, 4695–4698.
- [214] A. E. Smith, K. M. Clapham, A. S. Batsanov, M. R. Bryce, B. Tarbit, *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, *2008*, 1458–1463.
- [215] L. G. Luyt, H. M. Bigott, M. J. Welch, J. A. Katzenellenbogen, *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 4977–4989.
- [216] J. R. van der Vorst, B. E. Schaafsma, F. P. Verbeek, M. Hutteman, J. S. Mieog, C. W. Lowik, G. J. Liefers, J. V. Frangioni, C. J. van de Velde, A. L. Vahrmeijer, *Ann. Surg. Oncol.* **2012**, *19*, 4104–4111.
- [217] A. C. Ansink, D. M. Sie-Go, J. van der Velden, E. A. Sijmons, A. de Barros Lopes, J. M. Monaghan, G. G. Kenter, J. B. Murdoch, F. J. ten Kate, A. P. M. Heintz, *Cancer* **1999**, *86*, 652–656.
- [218] H. Niikura, C. Okamura, J. Akahira, T. Takano, K. Ito, K. Okamura, N. Yaegashi, *Gynecol. Oncol.* **2004**, *94*, 528–532.
- [219] H. C. Kolb, M. Finn, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2001**, *40*, 2004–2021.
- [220] V. V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Fokin, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2002**, *41*, 2596–2599.
- [221] T. L. Mindt, H. Struthers, L. Brans, T. Anguelov, C. Schweinsberg, V. Maes, D. Tourwé, R. Schibli, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 15096–15097.
- [222] H. Struthers, B. Spingler, T. L. Mindt, R. Schibli, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 6173–6183.

- [223] A. Boulay, M. Artigau, Y. Coulais, C. Picard, B. Mestre-Voegtle, E. Benoist, *Dalton Trans.* **2011**, *40*, 6206–6209.
- [224] F. L. Thorp-Greenwood, M. P. Coogan, *Dalton Trans.* **2011**, *40*, 6129–6143.
- [225] L. H. Davies, B. B. Kasten, P. D. Benny, R. L. Arrowsmith, H. Ge, S. I. Pascu, S. W. Botchway, W. Clegg, R. W. Harrington, L. J. Higham, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 15503–15505.
- [226] Y. Shimizu, K. Tanimura, S. Iikuni, H. Watanabe, H. Saji, M. Ono, *Molecules* **2019**, *24*.
- [227] A. H. Day, J. Domarkas, S. Nigam, I. Renard, C. Cawthorne, B. P. Burke, G. S. Bahra, P. C. F. Oyston, I. A. Fallis, S. J. Archibald, S. J. A. Pope, *Dalton Trans.* **2020**, *49*, 511–523.
- [228] S. R. Slikboer, T. S. Pitchumony, L. Banevicius, N. Mercanti, P. E. Edem, J. F. Valliant, *Dalton Trans.* **2020**, *49*, 14826–14836.
- [229] S. F. A. Rizvi, A. Ali, M. Ahmad, S. Mu, H. Zhang, *Nanoscale Adv.* **2021**.
- [230] I. Zolle, *Technetium-99m pharmaceuticals*, Springer, Berlin, Heidelberg, **2007**.
- [231] J. G. Darab, P. A. Smith, *Chem. Mat.* **1996**, *8*, 1004–1021.
- [232] T. L. Mindt, C. Müller, F. Stuker, J. F. Salazar, A. Hohn, T. Mueggler, M. Rudin, R. Schibli, *Bioconjugate Chem.* **2009**, *20*, 1940–1949.
- [233] P. Shieh, V. T. Dien, B. J. Beahm, J. M. Castellano, T. Wyss-Coray, C. R. Bertozzi, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 7145–7151.
- [234] R. Eychenne, S. Guizani, J.-H. Wang, C. Picard, N. Malek, P.-L. Fabre, M. Wolff, B. Machura, N. Saffon, N. Lepareur, E. Benoist, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2017**, *2017*, 69–81.
- [235] R. Schibli, R. La Bella, R. Alberto, E. Garcia-Garayoa, K. Ortner, U. Abram, P. Schubiger, *Bioconjugate Chem.* **2000**, *11*, 345–351.
- [236] N. Marti, B. Spingler, F. Breher, R. Schibli, *Inorg. Chem.* **2005**, *44*, 6082–6091.
- [237] K.-P. Huber, *Molecular spectra and molecular structure: IV. Constants of diatomic molecules*, Springer Science & Business Media, Boston, MA, **2013**.
- [238] K. Nakamaru, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1982**, *55*, 1639–1640.
- [239] L. Wei, J. W. Babich, W. Ouellette, J. Zubieta, *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 3057–3066.
- [240] S. Gioux, H. S. Choi, J. V. Frangioni, *Mol. Imaging* **2010**, *9*.
- [241] D. Y. Zhang, S. Singhal, J. Y. K. Lee, *Neurosurg.* **2019**, *85*, 312–324.
- [242] S. Hameed, H. Chen, M. Irfan, S. Z. Bajwa, W. S. Khan, S. M. Baig, Z. Dai, *Bioconjugate Chem.* **2019**, *30*, 13–28.
- [243] S. H. Ahn, D. Thach, B. A. Vaughn, V. M. Alford, A. N. Preston, S. T. Laughlin, E. Boros, *Mol. Pharm.* **2019**, *16*, 1412–1420.
- [244] V. Martinez, M. Henary, *Chem. Eur. J.* **2016**, *22*, 13764–13782.
- [245] Y. L. Huang, A. S. Walker, E. W. Miller, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 10767–10776.
- [246] V. Saxena, M. Sadoqi, J. Shao, *J. Photochem. Photobiol. B* **2004**, *74*, 29–38.

- [247] A. Egli, R. Alberto, L. Tannahill, R. Schibli, U. Abram, A. Schaffland, R. Waibel, D. Tourwé, L. Jeannin, K. Iterbeke, *J. Nucl. Med.* **1999**, *40*, 1913–1917.
- [248] J. Cao, Y. Wang, J. Yu, J. Xia, C. Zhang, D. Yin, U. O. Häfeli, *J. Magn. Magn. Mater.* **2004**, *277*, 165–174.
- [249] R. Alberto, K. Ortner, N. Wheatley, R. Schibli, A. P. Schubiger, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 3135–3136.
- [250] C. C. Konkankit, B. A. Vaughn, S. N. MacMillan, E. Boros, J. J. Wilson, *Inorg. Chem.* **2019**, *58*, 3895–3909.
- [251] Y. Wang, C. A. Mathis, G.-F. Huang, M. L. Debnath, D. P. Holt, L. Shao, W. E. Klunk, *J. Mol. Neurosci.* **2003**, *20*, 255–260.
- [252] A. Frutiger, A. Tanno, S. Hwu, R. F. Tiefenauer, J. Voros, N. Nakatsuka, *Chem. Rev.* **2021**, *121*, 8095–8160.
- [253] H. Van De Waterbeemd, D. A. Smith, K. Beaumont, D. K. Walker, *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 1313–1333.
- [254] M. J. Waring, *Expert Opin. Drug. Discov.* **2010**, *5*, 235–248.
- [255] J. A. Arnott, S. L. Planey, *Expert Opin. Drug. Discov.* **2012**, *7*, 863–875.
- [256] J. S. Wright, T. Kaur, S. Preshlock, S. S. Tanzey, W. P. Winton, L. S. Sharninghausen, N. Wiesner, A. F. Brooks, M. S. Sanford, P. J. Scott, *Clin. Transl. Imaging* **2020**, *8*, 167–206.
- [257] L. Gower-Fry, T. Kronemann, A. Dorian, Y. Pu, C. Jaworski, C. Wängler, P. Bartenstein, L. Beyer, S. Lindner, K. Jurkschat, B. Wängler, J. J. Bailey, R. Schirmacher, *Pharmaceuticals* **2021**, *14*.
- [258] Z. Li, K. Chansaenpak, S. Liu, C. R. Wade, P. S. Conti, F. P. Gabbaï, *MedChemComm* **2012**, *3*, 1305–1308.
- [259] C. Wängler, A. Kostikov, J. Zhu, J. Chin, B. Wängler, R. Schirmacher, *Appl. Sci.* **2012**, *2*, 277–302.
- [260] B. P. Burke, G. S. Clemente, S. J. Archibald, *Contrast Media Mol. Imaging* **2015**, *10*, 96–110.
- [261] B. Vabre, K. Chansaenpak, M. Wang, H. Wang, Z. Li, F. P. Gabbaï, *Chem. Commun.* **2017**, *53*, 8657–8659.
- [262] H. Hong, L. Zhang, F. Xie, R. Zhuang, D. Jiang, H. Liu, J. Li, H. Yang, X. Zhang, L. Nie, Z. Li, *Nat. Commun.* **2019**, *10*, 989.
- [263] Q. Zheng, H. Xu, H. Wang, W. H. Du, N. Wang, H. Xiong, Y. Gu, L. Noodleman, K. B. Sharpless, G. Yang, P. Wu, *J. Am. Chem. Soc.* **2021**, *143*, 3753–3763.
- [264] M. S. Rosenthal, A. L. Bosch, R. J. Nickles, S. J. Gatley, *Appl. Radiat. Isot.* **1985**, *36*, 318–319.

- [265] R. Schirmacher, G. Bradtmoller, E. Schirmacher, O. Thews, J. Tillmanns, T. Siessmeier, H. G. Buchholz, P. Bartenstein, B. Wängler, C. M. Niemeyer, K. Jurkschat, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2006**, *45*, 6047–6050.
- [266] V. Bernard-Gauthier, C. Wängler, E. Schirmacher, A. Kostikov, K. Jurkschat, B. Wängler, R. Schirmacher, *Biomed Res. Int.* **2014**, *2014*, 454503.
- [267] Y.-R. Luo, *Comprehensive handbook of chemical bond energies*, CRC press, Boca Raton, **2007**.
- [268] B. Cui, S. Jia, E. Tokunaga, N. Shibata, *Nat. Commun.* **2018**, *9*, 4393.
- [269] R. Corriu, J. Fernandez, C. Guerin, *Journal of Organometallic Chemistry* **1980**, *192*, 347–352.
- [270] O. Farooq, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1998**, 661–666.
- [271] U. Choudhry, K. Martin, S. Biagini, P. J. Blower, *Nucl. Med. Commun.* **2006**, *27*, 293.
- [272] M. H. Al-Huniti, S. Lu, V. W. Pike, S. D. Lepore, *J. Fluor. Chem.* **2014**, *158*, 48–52.
- [273] K. E. Danahy, J. C. Cooper, J. F. Van Humbeck, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2018**, *57*, 5134–5138.
- [274] J. A. Gibson, D. G. Ibbott, A. F. Janzen, *Can. J. Chem.* **1973**, *51*, 3203–3210.
- [275] R. K. Marat, A. F. Janzen, *Can. J. Chem.* **1977**, *55*, 3845–3849.
- [276] L. Mu, A. Hohne, P. A. Schubiger, S. M. Ametamey, K. Graham, J. E. Cyr, L. Dinkelborg, T. Stellfeld, A. Srinivasan, U. Voigtmann, U. Klar, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2008**, *47*, 4922–4925.
- [277] A. P. Kostikov, L. Iovkova, J. Chin, E. Schirmacher, B. Wängler, C. Wängler, K. Jurkschat, G. Cosa, R. Schirmacher, *J. Fluor. Chem.* **2011**, *132*, 27–34.
- [278] B. Wängler, A. P. Kostikov, S. Niedermoser, J. Chin, K. Orchowski, E. Schirmacher, L. Iovkova-Berends, K. Jurkschat, C. Wängler, R. Schirmacher, *Nat. Protoc.* **2012**, *7*, 1964–1969.
- [279] S. Lindner, C. Wängler, J. J. Bailey, K. Jurkschat, P. Bartenstein, B. Wängler, R. Schirmacher, *Nat. Protoc.* **2020**, *15*, 3827–3843.
- [280] P. S. Fier, J. F. Hartwig, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 10795–10798.
- [281] M. Munch, B. H. Rotstein, G. Ulrich, *Molecules* **2020**, *25*, 6042.
- [282] A. Paulus, P. Desai, B. Carney, G. Carlucci, T. Reiner, C. Brand, W. A. Weber, *EJNMMI Res.* **2015**, *5*, 120.
- [283] H. Kim, K. Kim, S. H. Son, J. Y. Choi, K. H. Lee, B. T. Kim, Y. Byun, Y. S. Choe, *ACS Chem. Neurosci.* **2019**, *10*, 1445–1451.
- [284] A. Paulus, N. Drude, E. B. M. Nascimento, E. M. Buhl, J. F. P. Berbee, P. C. N. Rensen, W. D. van Marken Lichtenbelt, F. M. Mottaghy, M. Bauwens, *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 2706.
- [285] M. Tredwell, V. Gouverneur, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2012**, *51*, 11426–11437.
- [286] F. Zarrad, B. D. Zlatopolskiy, P. Krapf, J. Zischler, B. Neumaier, *Molecules* **2017**, *22*.

- [287] A. V. Mossine, A. F. Brooks, K. J. Makaravage, J. M. Miller, N. Ichiishi, M. S. Sanford, P. J. Scott, *Org. Lett.* **2015**, *17*, 5780–5783.
- [288] M. Tredwell, S. M. Preshlock, N. J. Taylor, S. Gruber, M. Huiban, J. Passchier, J. Mercier, C. Genicot, V. Gouverneur, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2014**, *53*, 7751–7755.
- [289] J. Zischler, N. Kolks, D. Modemann, B. Neumaier, B. D. Zlatopolskiy, *Chem. Eur. J.* **2017**, *23*, 3251–3256.
- [290] G. A. Molander, N. M. Ellis, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 7491–7493.
- [291] J. A. Newby, L. Huck, D. W. Blaylock, P. M. Witt, S. V. Ley, D. L. Browne, *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 263–271.
- [292] K. Durka, M. Urban, M. Dabrowski, P. Jankowski, T. Klis, S. Lulinski, *ACS Omega* **2019**, *4*, 2482–2492.
- [293] H. Otsuka, E. Uchimura, H. Koshino, T. Okano, K. Kataoka, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 3493–3502.
- [294] X. Gao, Y. Zhang, B. Wang, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 4615–4618.
- [295] S. Gamsey, N. A. Baxter, Z. Sharrett, D. B. Cordes, M. M. Olmstead, R. A. Wessling, B. Singaram, *Tetrahedron* **2006**, *62*, 6321–6331.
- [296] M. Kitamura, T. Suzuki, R. Abe, T. Ueno, S. Aoki, *Inorg. Chem.* **2011**, *50*, 11568–11580.
- [297] D. Duran, N. Wu, B. Mao, J. Xu, *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* **2007**, *29*, 661–672.
- [298] H. L. D. Hayes, R. Wei, M. Assante, K. J. Geogheghan, N. Jin, S. Tomasi, G. Noonan, A. G. Leach, G. C. Lloyd-Jones, *J. Am. Chem. Soc.* **2021**, *143*, 14814–14826.
- [299] R. Sens, K. H. Drexhage, *J. Lumin.* **1981**, *24*, 709–712.
- [300] W. Zhu, X. Chai, B. Wang, Y. Zou, T. Wang, Q. Meng, Q. Wu, *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 9608–9611.
- [301] G. Fang, H. Wang, Z. Bian, J. Sun, A. Liu, H. Fang, B. Liu, Q. Yao, Z. Wu, *RSC Adv.* **2018**, *8*, 29400–29427.
- [302] M. Zhao, Y.-S. Guo, W.-N. Xu, Y.-F. Zhao, H.-Y. Xie, H.-J. Li, X.-F. Chen, R.-S. Zhao, D.-S. Guo, *Trends Anal. Chem.* **2020**, *122*.
- [303] C. Spahn, F. Hurter, M. Glaesmann, C. Karathanasis, M. Lampe, M. Heilemann, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2019**, *58*, 18835–18838.
- [304] B. Hinkeldey, A. Schmitt, G. Jung, *Chemphyschem* **2008**, *9*, 2019–2027.
- [305] M. Laube, R. Wodtke, K. Kopka, T. Kniess, J. Pietzsch, *Nucl. Med. Biol.* **2021**, *96*–97.
- [306] M. E. Sergeev, M. Lazari, F. Morgia, J. Collins, M. R. Javed, O. Sergeeva, J. Jones, M. E. Phelps, J. T. Lee, P. Y. Keng, R. M. van Dam, *Commun. Chem.* **2018**, *1*.

- [307] D. Antuganov, M. Zykov, V. Timofeev, K. Timofeeva, Y. Antuganova, V. Orlovskaya, O. Fedorova, R. Krasikova, *Eur. J. Org. Chem.* **2019**, 2019, 918–922.
- [308] T. C. Wilson, M. A. Xavier, J. Knight, S. Verhoog, J. B. Torres, M. Mosley, S. L. Hopkins, S. Wallington, P. D. Allen, V. Kersemans, R. Hueting, S. Smart, V. Gouverneur, B. Cornelissen, *J. Nucl. Med.* **2019**, 60, 504–510.
- [309] M. Laube, M. Frizler, R. Wodtke, C. Neuber, B. Belter, T. Kniess, M. Bachmann, M. Gütschow, J. Pietzsch, R. Löser, *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2019**, 62, 448–459.
- [310] M. Kuchar, C. Mamat, *Molecules* **2015**, 20, 16186–16220.
- [311] J. Zielonka, J. Joseph, A. Sikora, M. Hardy, O. Ouari, J. Vasquez-Vivar, G. Cheng, M. Lopez, B. Kalyanaraman, *Chem. Rev.* **2017**, 117, 10043–10120.
- [312] J. Li, J. Lu, Y. Zhou, *Biomed Res. Int.* **2017**, 2017, 5246853.
- [313] R. H. Seevers, R. E. Counsell, *Chem. Rev.* **2002**, 82, 575–590.
- [314] T. C. Wilson, G. McSweeney, S. Preshlock, S. Verhoog, M. Tredwell, T. Cailly, V. Gouverneur, *Chem. Commun.* **2016**, 52, 13277–13280.
- [315] P. Zhang, R. Zhuang, Z. Guo, X. Su, X. Chen, X. Zhang, *Chem. Eur. J.* **2016**, 22, 16783–16786.
- [316] S. W. Reilly, M. Makvandi, K. Xu, R. H. Mach, *Org. Lett.* **2018**, 20, 1752–1755.
- [317] E. Dubost, H. McErlain, V. Babin, A. Sutherland, T. Cailly, *J. Org. Chem.* **2020**, 85, 8300–8310.
- [318] M. Laube, F. Brandt, K. Kopka, H.-J. Pietzsch, J. Pietzsch, R. Loeser, R. Wodtke, *Nucl. Med. Biol.* **2021**, 96-97, S79–S80.
- [319] D. G. Hall, *Boronic acids: preparation, applications in organic synthesis and medicine*, Wiley-VCH, Weinheim, **2006**.
- [320] K. Numasawa, K. Hanaoka, T. Ikeno, H. Echizen, T. Ishikawa, M. Morimoto, T. Komatsu, T. Ueno, Y. Ikegaya, T. Nagano, Y. Urano, *Analyst* **2020**, 145, 7736–7740.
- [321] C.-J. Zhao, D. Xue, Z.-H. Jia, C. Wang, J. Xiao, *Synlett* **2014**, 25, 1577–1584.
- [322] P. A. Cox, A. G. Leach, A. D. Campbell, G. C. Lloyd-Jones, *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, 138, 9145–9157.
- [323] G. Zhang, Y. Li, J. Liu, *RSC Adv.* **2017**, 7, 34959–34962.
- [324] D. E. Olberg, J. M. Arukwe, D. Grace, O. K. Hjelstuen, M. Solbakken, G. M. Kindberg, A. Cuthbertson, *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 1732–1740.
- [325] J. W. Barton, D. J. Lapham, D. J. Rowe, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1985**.
- [326] B. H. Rotstein, N. A. Stephenson, N. Vasdev, S. H. Liang, *Nat. Commun.* **2014**, 5, 4365.
- [327] J. Cardinale, J. Ermert, S. Humpert, H. H. Coenen, *RSC Adv.* **2014**, 4, 17293–17299.
- [328] N. A. Stephenson, J. P. Holland, A. Kassenbrock, D. L. Yokell, E. Livni, S. H. Liang, N. Vasdev, *J. Nucl. Med.* **2015**, 56, 489–492.

- [329] S. H. Liang, L. Wang, N. A. Stephenson, B. H. Rotstein, N. Vasdev, *Nat. Protoc.* **2019**, *14*, 1530–1545.
- [330] U. Mühlhausen, J. Ermert, H. H. Coenen, *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2009**, *52*, 13–22.
- [331] A. V. Mossine, A. F. Brooks, N. Ichiishi, K. J. Makaravage, M. S. Sanford, P. J. Scott, *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 233.
- [332] M. Schrader, *Masterarbeit*, Technische Universität Dresden, **2018**.
- [333] J. R. Vane, *Nature New Biol.* **1971**, *231*, 232–235.
- [334] M. J. Uddin, B. C. Crews, K. Ghebreselasie, L. J. Marnett, *Bioconjugate Chem.* **2013**, *24*, 712–723.
- [335] M. J. Uddin, B. C. Crews, I. Huda, K. Ghebreselasie, C. K. Daniel, L. J. Marnett, *ACS Med. Chem. Lett.* **2014**, *5*, 446–450.
- [336] M. J. Uddin, B. C. Crews, A. L. Blobaum, P. J. Kingsley, D. L. Gorden, J. O. McIntyre, L. M. Matrisian, K. Subbaramaiah, A. J. Dannenberg, D. W. Piston, L. J. Marnett, *Cancer Res.* **2010**, *70*, 3618–3627.
- [337] T. Wang, Y. Hou, Y. Chen, K. Li, X. Cheng, Q. Zhou, X. Wang, *Dalton Trans.* **2015**, *44*, 12726–12734.
- [338] A. E. Machulkin, R. R. Shafikov, A. A. Uspenskaya, S. A. Petrov, A. P. Ber, D. A. Skvortsov, E. A. Nimenko, N. U. Zyk, G. B. Smirnova, V. S. Pokrovsky, M. A. Abakumov, I. V. Saltykova, R. T. Akhmirov, A. S. Garanina, V. I. Polshakov, O. Y. Saveliev, Y. A. Ivanenkov, A. V. Aladinskaya, A. V. Finko, E. U. Yamansarov, O. O. Krasnovskaya, A. S. Erofeev, P. V. Gorelkin, O. A. Dontsova, E. K. Beloglazkina, N. V. Zyk, E. S. Khazanova, A. G. Majouga, *J. Med. Chem.* **2021**, *64*, 4532–4552.
- [339] S. Robu, A. Schmidt, M. Eiber, M. Schottelius, T. Gunther, B. Hooshyar Yousefi, M. Schwaiger, H. J. Wester, *EJNMMI Res.* **2018**, *8*, 30.
- [340] A. C. Baranski, M. Schäfer, U. Bauder-Wüst, M. Roscher, J. Schmidt, E. Stenau, T. Simpfendorfer, D. Teber, L. Maier-Hein, B. Hadaschik, U. Haberkorn, M. Eder, K. Kopka, *J. Nucl. Med.* **2018**, *59*, 639–645.
- [341] C. A. Umbricht, M. Benešová, R. M. Schmid, A. Turler, R. Schibli, N. P. van der Meulen, C. Müller, *EJNMMI Res.* **2017**, *7*, 9.
- [342] R. Seifert, *Basiswissen Pharmakologie*, Springer, Berlin, Heidelberg, **2018**.
- [343] E. L. Rosenthal, J. M. Warram, E. de Boer, T. K. Chung, M. L. Korb, M. Brandweingen-sler, T. V. Strong, C. E. Schmalbach, A. B. Morlandt, G. Agarwal, Y. E. Hartman, W. R. Carroll, J. S. Richman, L. K. Clemons, L. M. Nabell, K. R. Zinn, *Clin. Cancer Res.* **2015**, *21*, 3658–3666.
- [344] G. R. Fulmer, A. J. M. Miller, N. H. Sherden, H. E. Gottlieb, A. Nudelman, B. M. Stoltz, J. E. Bercaw, K. I. Goldberg, *Organometallics* **2010**, *29*, 2176–2179.

- [345] C. Würth, M. Grabolle, J. Pauli, M. Spieles, U. Resch-Genger, *Nat. Protoc.* **2013**, *8*, 1535–1550.
- [346] M. Kreller, H. Pietzsch, M. Walther, H. Tietze, P. Kaefer, T. Knieß, F. Füchtner, J. Steinbach, S. Preusche, *Instruments* **2019**, *3*.
- [347] T. Kanagasundaram, C. S. Kramer, E. Boros, K. Kopka, *Dalton Trans.* **2020**, *49*, 7294–7298.
- [348] T. Kanagasundaram, M. Laube, J. Wodtke, C. S. Kramer, S. Stadlbauer, J. Pietzsch, K. Kopka, *Pharmaceuticals* **2021**, *14*.
- [349] S. Gamsey, V. Bernat, A. Kuttyavin, J. W. Clary, S. Pradhan, WO2020006248A1, **2020**.
- [350] G. J. Lovinger, J. P. Morken, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 17293–17296.
- [351] A. A. Wilson, L. Jin, A. Garcia, J. N. DaSilva, S. Houle, *Appl. Radiat. Isot.* **2001**, *54*, 203–208.
- [352] S. Dhami, A. J. D. Mello, G. Rumbles, S. M. Bishop, D. Phillips, A. Beeby, *Photochem. Photobiol.* **1995**, *61*, 341–346.
- [353] C. A. Schneider, W. S. Rasband, K. W. Eliceiri, *Nat. Methods* **2012**, *9*, 671–675.
- [354] K. L. Chatalic, S. Heskamp, M. Konijnenberg, J. D. Molkenboer-Kuening, G. M. Franssen, M. C. Clahsen-van Groningen, M. Schottelius, H. J. Wester, W. M. van Weerden, O. C. Boerman, M. de Jong, *Theranostics* **2016**, *6*, 849–861.
- [355] R. Tonnesmann, P. T. Meyer, M. Eder, A. C. Baranski, *Pharmaceuticals* **2019**, *12*.

8. Danksagung

Zunächst möchte ich meinem Doktorvater Prof. Dr. Klaus Kopka danken, mich nach dem Freiwilligenpraktikum und der Masterarbeit ab 2018 als Doktorand am Deutschen Krebsforschungszentrum angenommen und mich mit diesem hochinteressanten Thema bedacht zu haben. Zudem bin ich Ihm sehr dankbar mich in bestmöglicher Weise betreut und in dem Forschungsfeld der radiopharmazeutischen Chemie in jeglicher Art unterstützt zu haben (z.B. durch Teilnahmen an Konferenzen und Summer Schools). Außerdem bin ich Ihm für das entgegengebrachte Vertrauen und der Möglichkeit während der Promotion einen Auslandsaufenthalt im Arbeitskreis von Prof. Eszter Boros in New York absolvieren zu dürfen sehr dankbar. All diese nicht selbstverständliche Unterstützung hat mir geholfen, meinen künftigen Karriereweg in diesem Fachbereich zu formen und weiter auszubauen. Das werde ich nicht vergessen.

Im selben Zuge möchte ich mich auch bei Prof. Dr. Peter Comba für die Annahme als Doktorand an der Universität Heidelberg bedanken. Seit dem Forschungspraktikum im Jahr 2016 (Betreuer: Dr. Asha Roberts) durfte ich von Prof. Comba kontinuierliche Unterstützung erfahren. Zudem bin ich Ihm sehr dankbar für die herzliche Aufnahme und Integration in seinen Arbeitskreis, der Zeit und Möglichkeit für den regelmäßigen wertvollen Austausch über viele verschiedene Themen hinweg und das trotz teilweise großer Distanz. Außerdem möchte ich mich auch für die Teilnahme und dem Wissensaustausch während der „Thesis advisory committee“-Meetings bedanken. Der Arbeitsgruppe um Prof. Comba (insbesondere auch Maik Jakob) danke ich ebenfalls für die familiäre Umgebung, in der ich mich gut aufgehoben gefühlt habe und der Hilfsbereitschaft für Messungen jeglicher Art.

Prof. Dr. Eszter Boros danke ich für die Chance und Möglichkeit einen Teil der Doktorarbeit in Ihrem Arbeitskreis an der Stony Brook University in New York absolvieren zu dürfen. Für die herzliche Aufnahme und der schnellen Integration in Ihren tollen Arbeitskreis bin ich Ihr sehr dankbar. Ebenfalls bedanke ich mich bei Ihrer ganzen Arbeitsgruppe für die freundliche Aufnahme und der tatkräftigen Unterstützung. I am highly grateful for the support from Dr. Brett Vaughn, Dr. Grace Ahn, Dr. Alexia Cosby, Kirsten Martin, Dr. Apurva Pandey, Angus Koller and Piyusha Lotlikar. Durch diesen Kurzaufenthalt in New York konnte ich sowohl persönlich als auch karrieretechnisch eine Menge für meinen weiteren Lebensweg mitnehmen.

Bei Martin Schäfer möchte ich mich herzlichst für die vielen fachlichen und persönlichen Gespräche während der Zeit am Deutschen Krebsforschungszentrum bedanken. Durch Ihn konnte ich bereits ab dem Praktikum 2017 wichtige Fundamente der Radiochemie erlernen

8. Danksagung

und dadurch viel Freude in diesem Fachbereich entwickeln, sodass er einen wegweisenden Schritt für meine künftigen Karriereentscheidungen in diesem Fachbereich geleistet hat.

Außerdem möchte ich mich bei Dr. Lindsay Murrells und dem Helmholtz International Graduate School for Cancer Research für die kontinuierliche Unterstützung aber auch für die Vergabe eines Reisestipendium zur Realisierung des Forschungsaufenthalts in New York bedanken. Im diesem Zuge danke ich auch der FAZIT-Stiftung (FAZIT-STIFTUNG Gemeinnützige Verlagsgesellschaft mbH) für eine weitere Reisekostenbeihilfe für den US-Gastaufenthalt.

Dr. Aubry Miller danke ich für die Teilnahme an den „Thesis advisory committee“-Meetings und der angebotenen fachlichen Gespräche, welche mir stets weitergeholfen haben.

Bei Dr. Markus Laube möchte ich mich für die Unterstützung in den Radiomarkierungsexperimenten, der zahlreichen Korrekturen und generell für die überragende Laborbetreuung in jeglicher Hinsicht bedanken. Durch diese Betreuung konnte ich wertvolle Erfahrungen mitnehmen.

Ebenfalls bedanke ich mich bei meiner Bachelorstudentin Antje Timmermann, welche im Rahmen Ihrer Bachelorarbeit am Deutschen Krebsforschungszentrum, eine tolle Arbeit abgeliefert hat.

Dr. Cornelius Donat danke ich für die Übernahme und Durchführung der *in vitro* und *in vivo* Experimente.

Sandra Casula danke ich sehr für die stets schnelle Bearbeitung der organisatorischen Angelegenheiten und der generellen Unterstützung.

Dr. Dr. Carsten Sven Kramer danke ich für die ausführliche Einarbeitung in das Thema der Si-Rhodamine, der guten Betreuung am Deutschen Krebsforschungszentrum und der vielen ausführlichen Korrekturarbeiten.

Ich bedanke mich sehr bei Dr. Mareike Roscher, Ulrike Bauder-Wüst und Dr. Ann-Christin Eder für die Wissensvermittlung über Tumormodelle und der vielen Möglichkeiten kurz in die Biologie eintauchen zu dürfen.

Außerdem bin ich Yvonne Remde für die hilfreiche Einarbeitung in die Radiofluorierungen und der generellen Unterstützung im Labor sehr dankbar.

Ich danke dem organisch-chemischen Institut in Heidelberg für die Messungen der Massenspektren und der angebotenen Unterstützung.

Außerdem möchte ich mich bei allen Wegbegleitern vom Deutschen Krebsforschungszentrum für die vielen interessanten und lustigen Gespräche aber auch der generell schönen Atmosphäre bedanken. Hierzu zählen vor allem Mohammadreza Kamali Sarvestani, Rebekka Haderspeck, Dr. Anja Wacker, Markus Reber, Viprav Gupta, Daniel Burkert, Andreas Sold, Dr. Martina Benešová, Jana Schmidt, Luisa Deberle, Sarah Schweitzer, Dr. Christos Liolios,

Ines Katzschmann, Heike Marx, Dr. Ute Hennrich, Jonas Scheuber, Jan Weber und Dr. Ata Makarem.

Des Weiteren möchte ich mich bei allen Kollegen am Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf bedanken. Dabei gilt mein Dank Frau Marita Kersten für die Übernahme vieler organisatorischer Angelegenheiten.

Außerdem danke ich allen nach dem Umzug ins HZDR für die herzliche Aufnahme und der damit verbundenen Unterstützung, der ich sehr verbunden bin. Hierzu zählt vor allem die Gruppe um Dr. Hans-Jürgen Pietzsch: Dr. David Bauer, Dr. Falco Reissig, Madlen Matterna, Bianca Kreisl, Christian Jentschel, Brigitte Große, Dr. Constantin Mamat, Dr. Robert Wodtke, Dr. Kristof Zarschler, Karin Landrock und Uta Herzog.

Im selben Zuge gilt ebenfalls der Dank der Arbeitsgruppe um Prof. Dr. Jens Pietzsch. Hierbei bedanke ich mich vor allem bei Johanna Wodtke für die sehr unkomplizierte Betreuung und der großen Hilfe und Unterstützung in den Zellexperimenten.

Unserer stetig wachsenden Arbeitsgruppe FWPL und Dr. Sven Stadlbauer danke ich für die Unterstützung jeglicher Art. Zudem danke ich Dr. Oliver Kiß und Dr. Tanmaya Joshi für viele wertvolle Gespräche und den sehr nützlichen Karrieretipps und ebenso auch Kathrin Wewers für viele organisatorische Angelegenheiten und den netten Gesprächen.

Ich danke auch Dr. Sven Elbert (Arbeitskreis von Prof. Dr. Michael Mastalerz) für die hervorragende Betreuung meiner damaligen Bachelorarbeit (2015). In dieser kurzen Zeit konnte ich jede Menge Erfahrungen sammeln, sodass er maßgeblich an meinen ersten Schritten in die Wissenschaft beteiligt war.

Ich danke meiner Familie von ganzem Herzen, für die moralische Unterstützung und dass sie mir mit Rat und Tat zur Seite steht und mir außerdem ein sorgenloses Chemiestudium ermöglichen konnte.

9. Eidesstattliche Versicherung

§ 8 der Promotionsordnung der Naturwissenschaftlich-Mathematischen Gesamtfakultät der Universität Heidelberg

1. Bei der eingereichten Dissertation zum Thema „**Die Synthese von radiomarkierten Silizium-Rhodaminen als Fluoreszenzfarbstoffe für die bimodale molekulare und optische Bildgebung**“ handelt es sich um meine eigenständig erbrachte Leistung.
2. Ich habe nur die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt und mich keiner unzulässigen Hilfe Dritter bedient. Insbesondere habe ich wörtlich oder sinngemäß aus anderen Werken übernommene Inhalte als solche kenntlich gemacht.
3. Die Arbeit oder Teile davon habe ich bislang nicht an einer Hochschule des In- oder Auslands als Bestandteil einer Prüfungs- oder Qualifikationsleistung vorgelegt.
4. Die Richtigkeit der vorstehenden Erklärungen bestätige ich.
5. Die Bedeutung der eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unrichtigen oder unvollständigen eidesstattlichen Versicherung sind mir bekannt.

Ich versichere an Eides statt, dass ich nach bestem Wissen die reine Wahrheit erkläre und nichts verschwiegen habe.

Ort und Datum

Unterschrift