



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) DE 60 2004 011 553 T2 2009.03.26

(12)

Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) EP 1 682 113 B1

(21) Deutsches Aktenzeichen: 60 2004 011 553.3

(86) PCT-Aktenzeichen: PCT/GB2004/004792

(96) Europäisches Aktenzeichen: 04 798 512.2

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: WO 2005/049005

(86) PCT-Anmeldetag: 12.11.2004

(87) Veröffentlichungstag

der PCT-Anmeldung: 02.06.2005

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: 26.07.2006

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: 23.01.2008

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: 26.03.2009

(51) Int Cl.⁸: A61K 31/18 (2006.01)

A61K 49/00 (2006.01)

A61K 51/00 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

0326546 14.11.2003 GB

(73) Patentinhaber:

GE Healthcare Ltd., Little Chalfont,
Buckinghamshire, GB

(74) Vertreter:

Hammonds LLP Rechtsanwälte Patentanwälte,
80539 München

(84) Benannte Vertragsstaaten:

AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB,
GR, HU, IE, IS, IT, LI, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE,
SI, SK, TR

(72) Erfinder:

CUTHBERTSON, Alan, N-0401 Oslo, NO;
SOLBAKKEN, Magne, N-0401 Oslo, NO;
BJURGERT, Emma, N-0401 Oslo, NO

(54) Bezeichnung: HEMMER-DARSTELLENDE MITTEL

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelebt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung**Gebiet der Erfindung**

[0001] Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf diagnostische Bildgebungsmittel zur in vivo Bildgebung. Die Bildgebungsmittel umfassen einen Metalloproteinase-Inhibitor, der mit einer Bildgebungseinheit markiert ist, die sich zur diagnostischen Bildgebung in vivo eignet.

Hintergrund der Erfindung

[0002] Bei den Matrix-Metalloproteinasen (MMPs) handelt es sich um eine Familie von mindestens zwanzig zinkabhängigen Endopeptidasen, welche Degradation oder Remodellierung der extrazellulären Matrix (ECM) vermitteln [Massova, u. a., FASEB J 12 1075 (1998)]. Gemeinsam sind die Mitglieder der MMP-Familie in der Lage, alle der Komponenten der Blutgefäßwand abzubauen, und spielen deshalb eine wichtige Rolle in sowohl physiologischen als auch pathologischen Ereignissen, welche die Degradation von Komponenten der ECM involvieren. Da die MMPs die Zellmatrixinteraktionen stören können, die das Zellverhalten steuern, beeinträchtigt ihre Aktivität Prozesse, die so unterschiedlich sind wie die zelluläre Differenzierung, Migration, Proliferation und Apoptose. Die negativen regulatorischen Steuerungsmechanismen, die für die Feinabstimmung der MMP-Aktivität in physiologischen Situationen sorgen, funktionieren nicht immer so, wie sie sollten. Es wird vermutet, dass bei mehreren Erkrankungszuständen eine ungünstige Expression der MMP-Aktivität Teil des pathologischen Mechanismus ist. Deshalb stellen MMPs bei vielen entzündlichen, bösartigen und degenerativen Erkrankungen die Ziele für therapeutische Metalloproteinase-Inhibitoren (MMPi's) dar [Whittaker, u. a.: Chem. Rev. 99, 2735 (1999)].

[0003] Dies führt zur Vermutung, dass synthetische Inhibitoren von MMPs bei der Behandlung etlicher entzündlicher, bösartiger und degenerativer Erkrankungen von Nutzen sein können. Des Weiteren wurde darauf hingewiesen, dass sich Inhibitoren von MMPs bei der Diagnose dieser Erkrankungen als dienlich erweisen können. WO 01/60416 offenbart Chelatorkonjugate von Matrix-Metalloproteinase (MMP)-Inhibitoren und deren Verwendung bei der Herstellung von Metallkomplexen mit diagnostischen Metallen. Bei den spezifischen MMP-Inhibitor-Klassen, die beschrieben sind, handelt es sich um Hydroxamate, insbesondere Succinyl-Hydroxamate. Es wird vorgeschlagen, dass die Verbindungen bei der Diagnose kardiovaskulärer Pathologien nützlich sind, die mit extrazellulärer Matrixdegradation in Zusammenhang stehen, wie z. B. Atherosklerose, Herzversagen und Restenose. Bevorzugte MMP-Inhibitoren, Chelatoren und Linker sind hierin beschrieben. Ein Bericht von Zheng, u. a. [NucL Med-Biol 29, 761–770 (2002)] dokumentiert die Synthese von MMP-Inhibitoren, die mit den Positronenemissionstomographie (PET)-Tracern ¹¹C und ¹⁸F markiert sind. Bei den in diesem Bericht beschriebenen Verbindungen wird vorausgesetzt, dass sie nutzbringend bei der nichtinvasiven Bildgebung von Brustkrebs sind.

Die vorliegende Erfindung

[0004] Nun wurde herausgefunden, dass eine bestimmte Klasse der Sulfonamid-Hydroxamat-Matrix-Metalloproteinase-Inhibitoren (MMPi's), markiert mit einer Bildgebungseinheit, nützliche diagnostische Bildgebungsmittel bei in vivo Bildgebung und Diagnose hinsichtlich des Körpers von Säugern sind. Diese Verbindungen weisen eine ausgezeichnete MMP-inhibitorische Aktivität mit dem Ki-Wert im subnanomolaren Bereich auf. Die Profile für die renale Ausscheidung der erfindungsgemäßen MMPi's lassen sich durch Verwendung zweckmäßiger Linkergruppen, insbesondere von Polyethylenglykol(PEG)-Linkergruppen, regulieren.

[0005] Die Bildgebungsmittel der vorliegenden Erfindung sind von Nutzen für die diagnostische in vivo Bildgebung bei einer Reihe von Erkrankungszuständen (entzündliche, bösartige und degenerative Erkrankungen), bezüglich derer bekannt ist, dass spezifische Matrix-Metalloproteinasen involviert sind. Zu diesen Erkrankungen zählen:

- (a) Atherosklerose, bei welcher verschiedene MMPs überexprimiert sind. Erhöhte Level von MMP-1, 3, 7, 9, 11, 12, 13 und von MT1-MMP wurden in atherosklerotischen Plaques beim Menschen nachgewiesen [S. J. George, Exp. Opin. Invest. Drugs, 9 (5), 993–1007 (2000) und Bezugnahmen hierin]. Über die Expression von MMP-2 [Z. Li, u. a., Am. J. Pathol., 148, 121–128 (1996)] und MMP-8 [M. P. Herman, u. a., Circulation, 104, 1899–1904 (2001)] bei humanem Atherom wird ebenfalls berichtet;
- (b) Chronisches Herzversagen (Peterson, J. T., u. a., Matrix metalloproteinase inhibitor development for the treatment of heart failure, Drug Dev. Res. (2002), 55 (1), 29–44 berichtet, dass MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-8, MMP-9, MMP13 und MMP-14 bei Herzversagen hochreguliert sind);
- (c) Krebs [Vihinen, u. a., Int. J. Cancer 99, S. 157–166 (2002) prüft die MMP-Involvierung bei Krebs und

hebt MMP-2, MMP-3, MMP-7 und MMP-9 besonders hervor];

(d) Arthritis [Jacson, u. a.: Inflamm. Res. 50 (4), S. 183–186 (2001) „Selective matrix metalloproteinase inhibition in rheumatoid arthritis-targeting gelatinase A activation“, vor allem MMP-2 wird behandelt];
 (e) Amyotrophe Lateralsklerose [Lim, u. a., J. Neurochem, 67, 251–259 (1996); wobei MMP-2 und MMP-9 involviert sind];

(f) Gehirnmetastasen, bezüglich derer berichtet wird, dass MMP-2, MMP-9 und MMP-13 impliziert sind [Spinalle, Circul. Res., 90 520–530 (2002)];

(g) Zerebrovaskuläre Erkrankungen, hinsichtlich derer berichtet wird, dass MMP-2 und MMP-9 involviert sind [Lukes, u. a., Mol. Neurobiol., 19, 267–284 (1999)];

(h) Alzheimer-Krankheit, bei der MMP-2 und MMP-9 in erkranktem Gewebe identifiziert worden sind [Backstrom, u. a., J. Neurochem., 58, 983–992 (1992)];

(i) Neuroinflammatorische Erkrankung, bei der MMP-2, MMP-3 und MMP-9 involviert sind [Mun-Bryce, u. a., Brain. Res., 933, 42–49 (2002)];

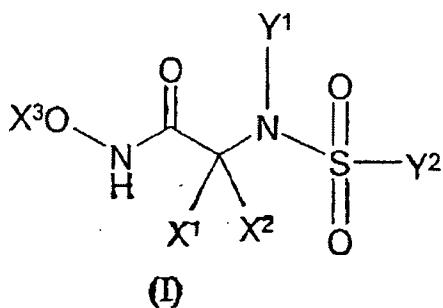
(j) COPD (d. h. Chronisch obstruktive Lungenerkrankung), über die berichtet wird, dass MMP-1, MMP-2, MMP-8 und MMP-9 hochreguliert sind [Segura-Valdez, u. a., Chest, 117, 684–694 (2000)], u. a.;

(k) Augenpathologie [Kurpakus-Wheater, u. a., Prog. Histo. Cytochem., 36 (3), 179–259 (2001)];

(l) Hauterkrankungen (Herouy, Y., Int. J. Mol. Med., 7 (1), 3–12 (2001)].

Detaillierte Beschreibung der Erfindung

[0006] In einem ersten Aspekt bietet die vorliegende Erfindung ein Bildgebungsmitittel, das einen Metalloproteinase-Inhibitor der Formel (I) umfasst, der mit einer Bildgebungseinheit markiert ist, wobei die Bildgebungseinheit nach Verabreichung des Bildgebungsmittels an den Körper eines Säugers *in vivo* detektiert werden kann:



wobei:

Y¹ steht für H oder -(CH₂)_w-(C=O)-Z; wobei w eine ganze Zahl des Wertes 1 bis 6 ist; und

Z steht für OH, C₁₋₆-Alkoxy, C₄₋₁₀-Aryloxy oder NR¹R², wobei R¹ und R² jeweils unabhängig ausgewählt sind aus der Gruppe, die besteht aus H, C₁₋₆-Alkyl, C₃₋₆-Cycloalkyl, C₁₋₆-Fluoroalkyl oder C₄₋₁₀-Aryl.

[0007] X¹ und X² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, einen gesättigten C₃₋₁₀-Ring bilden, der alicyclisch oder bicyclisch sein kann, und gegebenenfalls ein oder zwei Heteroatome eingebaut haben kann, die aus O, N und S ausgewählt sind;

X³ steht für H, C₁₋₃-Alkyl oder C₁₋₃-Fluoroalkyl;

Y² steht für eine Gruppe der Formel -[A¹]_p[O]_qA², wobei p und q für 0 oder 1 stehen, und A¹ steht für C₁₋₁₀-Alkylene, C₃₋₈-Cycloalkylen, C₁₋₁₀-Perfluoralkylen, C₆₋₁₀-Arylen oder C₂₋₁₀-Heteroarylen, und A² steht für H, C₁₋₁₀-Alkyl, C₃₋₈-Cycloalkyl, C₁₋₁₀-Perfluoralkyl, C₆₋₁₀-Aryl oder C₂₋₁₀-Heteroaryl, mit der Maßgabe, dass, wenn p = 0, q auch für 0 steht und A² nicht für H steht.

[0008] In Formel (I) steht Y¹ vorzugsweise für -(CH₂)_w-(C=O)-Z. w steht bevorzugt für 1, 2 oder 3, besonders bevorzugt für 2 oder 3 und ganz besonders bevorzugt für 2. X³ steht bevorzugt für H, CH₃ oder CH₂F, besonders bevorzugt für H oder CH₃ und ganz besonders bevorzugt für H. Y² steht vorzugsweise für A², wobei A² für C₆₋₁₀-Aryl oder C₂₋₁₀-Heteroaryl oder für A¹[O]_qA² steht, wobei A¹ für C₆₋₁₀-Arylen steht und A² für C₆₋₁₀-Aryl oder C₂₋₁₀-Heteroaryl steht.

[0009] Z steht bevorzugt für NR¹R² und wird besonders bevorzugt so gewählt, dass der eine von R¹ oder R² für H steht und der andere nicht für H steht.

[0010] Zu den geeigneten monocyclischen Ringen, die durch X¹ und X² zusammen mit dem Kohlenstoffatom gebildet werden, an das sie angebunden sind, zählen: Cycloankan (z. B. Cyclopantan oder Cyclohexan), Pipe-

ridin, Tetrahydrofuran, Tetrahydropyran und Tetrahydrothiophen. Zu den geeigneten bicyclischen Ringen gehören: Bicyclo[2.2.2]octan, Bicyclo[2.2.3]nonan und bicyclische Tetrahydropyrane mit zusätzlichen Ethylenbrücken. Weiterhin können die Ringe von X¹ und X² gegebenenfalls einen oder mehrere Hydroxyl-, C₁₋₃-Alkoxy- oder C₁₋₃-Fluoroalkyl-Substituenten umfassen. Bei bevorzugten Ringen, die durch X¹ und X² zusammen mit dem Kohlenstoff gebildet werden, an das sie angebunden sind, handelt es sich um C₄₋₆-Cycloalken oder um 4-bis-6-gliedrige Ringe, in die eine einzige Etherverknüpfung eingegliedert ist, besonders bevorzugt sind Cyclopantan-, Cyclohexan- oder Tetrahydropyran-Ringe.

[0011] Die Sulfonamid-Hydroxamat-Matrix-Metalloproteinase-Inhibitoren der vorliegenden Erfindung besitzen geeigneterweise eine Masse von 100 bis 2000 Dalton, bevorzugt eine Masse von 150 bis 600 Dalton und besonders bevorzugt eine Masse von 200 bis 500 Dalton. Vorzugsweise ist der Inhibitor synthetischen Ursprungs.

[0012] Unter dem Begriff „markiert mit“ ist zu verstehen, dass entweder der MMPi selbst die Bildgebungseinheit umfasst oder dass die Bildgebungseinheit als zusätzliche Spezies angebunden ist, gegebenenfalls via eine Linkergruppe, wie nachstehend bezüglich Formel II erläutert. Wenn der MMPi selbst die Bildgebungseinheit umfasst, bedeutet dies, dass die „Bildgebungseinheit“ einen Teil der chemischen Struktur des MMPi darstellt und ferner ein radioaktives oder nichtradioaktives Isotop ist, das in einer Häufigkeit vorhanden ist, die signifikant über dem natürlichen Häufigkeitsgrad besagten Isotops liegt. Derartige erhöhte oder angereicherte Isotopelevels sind passenderweise mindestens fünfmal, bevorzugt mindestens zehnmal, besonders bevorzugt mindestens zwanzigmal und ganz besonders bevorzugt mindestens fünfzigmal so hoch wie der natürliche Häufigkeitsgrad des betreffenden Isotops; ganz besonders bevorzugt ist auch ein Anreicherungslevel des betreffenden Isotops von 90 bis 100%. Beispiele für MMPi's, welche die „Bildgebungseinheit“ umfassen, sind nachstehend beschrieben, beinhalten aber CH₃-Gruppen mit erhöhten ¹³C- oder ¹¹C-Levels und Fluoralkylgruppen mit erhöhten ¹⁸F-Levels, so dass das isotopisch markierte ¹³C, ¹¹C oder ⁸F die Bildgebungseinheit innerhalb der chemischen Struktur des MMPi's stellt. Die Radioisotope ³H und ¹⁴C taugen hingegen nicht als Bildgebungseinheiten.

[0013] Die „Bildgebungseinheit“ kann entweder außerhalb des Körpers eines Säugers oder mittels Einsatz von Detektoren detektiert werden, die für den Gebrauch in vivo entworfen sind, z. B. mithilfe von intravaskulärer Strahlung, optischen Detektoren, wie Endoskopen, oder Strahlendetektoren, die zur intraoperativen Anwendung entwickelt sind. Bevorzugte Bildgebungseinheiten sind jene, die sich im Anschluss an eine Verabreichung in vivo extern bzw. in nichtinvasiver Weise detektieren lassen. Besonders bevorzugte Bildgebungseinheiten sind radioaktiv, vor allem radioaktive Metallionen, Gamma-emittierende radioaktive Halogene und Positronen emittierende radioaktive Nichtmetalle, in erster Linie jene, die sich zur Bildgebung mittels SPECT oder PET eignen.

[0014] Vorzugsweise ist die „Bildgebungseinheit“ ausgewählt aus:

- (i) einem radioaktiven Metallion;
- (ii) einem paramagnetischen Metallion;
- (iii) einem Gamma-emittierenden radioaktiven Halogen;
- (iv) einem Positronen emittierenden radioaktiven Nichtmetall;
- (v) einem hyperpolarisierten NMR-aktiven Kern;
- (vi) einem Reporter, der sich für eine optische Bildgebung in vivo eignet;
- (vii) einem β-Emitter, der sich für intravaskuläre Detektion eignet.

[0015] Wenn es sich bei der Bildgebungseinheit um ein radioaktives Metallion, d. h. ein Radiometall, handelt, schließt der Begriff „Radiometall“ radioaktive Übergangselemente plus Lanthanide und Aktinide sowie die Metallelemente der Hauptgruppe ein. Ausgeschlossen sind jedoch die Halbmetalle Arsen, Selen und Tellurium. Geeignete Radiometalle können entweder Positronenemitter sein, wie z. B. ⁶⁴Cu, ⁴⁸V, ⁵²Fe, ⁵⁵CO, ^{94m}Tc oder ⁶⁸Ga; γ-Emitter, wie z. B. ^{99m}Tc, ¹¹¹In, ^{113m}In oder ⁶⁷Ga. Bevorzugte Radiometalle sind ^{99m}Tc, ⁶⁴Cu, ⁶⁸Ga und ¹¹¹In. Besonders bevorzugte Radiometalle sind γ-Emitter, vor allem ^{99m}Tc.

[0016] Wenn die Bildgebungseinheit ein paramagnetisches Metallion ist, zählen zu den geeigneten Metallionen wie folgt: Gd(III), Mn(II), Cu(II), Cr(III), Fe(III), Co(II), Er(II), Ni(II), Eu(III) oder Dy(III). Bevorzugte paramagnetische Metallionen sind Gd(III), Mn(II) und Fe(III), wobei Gd(III) besonderer Vorzug gegeben wird.

[0017] Ist die Bildgebungseinheit ein Gamma-emittierendes radioaktives Halogen, erfolgt die Auswahl des Radiohalogens zweckgemäß aus ¹²³I, ¹³¹I oder ⁷⁷Br. Ein bevorzugtes Gamma-emittierendes radioaktives Halogen stellt ¹²³I dar.

[0018] Wenn die Bildgebungseinheit ein Positronen emittierendes radioaktives Nichtmetall ist, zählen zu den geeigneten Positronenemittoren: ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O , ^{17}F , ^{18}F , ^{75}Br , ^{76}Br oder ^{124}I . Bevorzugte Positronen emittierende radioaktive Nichtmetalle sind ^{11}C , ^{13}N , ^{124}I und ^{18}F , besonders ^{11}C und ^{18}F sowie ganz besonders ^{18}F .

[0019] Handelt es sich bei der Bildgebungseinheit um einen hyperpolarisierten NMR-aktiven Nukleus, haben solche NMR-aktiven Nuklei einen Kernspin ungleich null und umfassen ^{13}C , ^{15}N , ^{19}F , ^{29}Si und ^{31}P . Von diesen wird ^{13}C bevorzugt. Unter dem Begriff „hyperpolarisiert“ ist eine Verstärkung des Polarisationsgrads des NMR-aktiven Nukleus über dessen Gleichgewichtspolarisation hinaus zu verstehen. Die natürliche Häufigkeit von ^{13}C (in Bezug auf ^{12}C) beträgt etwa 1%, und geeignete ^{13}C -markierte Verbindungen sind zweckgemäß angereichert auf eine Häufigkeit von mindestens 5%, bevorzugt mindestens 50% und besonders bevorzugt 90%, bevor die Hyperpolarisierung erfolgt. Mindestens ein Kohlenstoffatom des Metalloproteinase-Inhibitors der vorliegenden Erfindung ist passend mit ^{13}C angereichert, das anschließend hyperpolarisiert wird.

[0020] Wenn die Bildgebungseinheit ein Reporter ist, der sich für die optische Bildgebung *in vivo* eignet, bildet der Reporter eine beliebige Einheit, die sich in einem optischen Bildgebungsverfahren entweder direkt oder indirekt detektieren lässt. Beim Reporter kann es sich um einen Lichtstreuer (z. B. ein farbiges oder farbloses Teilchen), einen Lichtabsorber oder einen Lichtemitter handeln. Besonders bevorzugt ist der Reporter ein Farbstoff, wie z. B. eine chromophore oder fluoreszente Verbindung. Als Farbstoff kommt jedweder Farbstoff in Frage, der mit Licht im elektromagnetischen Spektrum interagiert, dessen Wellenlängen im Bereich vom ultravioletten Licht bis hin zu Nahinfrarot liegen. Besonders bevorzugt besitzt der Reporter fluoreszierende Eigenschaften.

[0021] Bevorzugte organische chromophore und fluorophore Reporter beinhalten Gruppen mit einem extensiven delokalisierten Elektronensystem, z. B. Cyanine, Merocyanine, Indocyanine, Phthalocyanine, Naphthalocyanine, Triphenylmethine, Porphyrine, Pyrylium-Farbstoffe, Thiapyrylium-Farbstoffe, Squarylium-Farbstoffe, Croconium-Farbstoffe, Azulenium-Farbstoffe, Indoaniline, Benzophenoxazinium-Farbstoffe, Benzothiaphenothiazinium-Farbstoffe, Anthrachinone, Naphthochinone, Indathrene, Phthaloylacridone, Trisphenoquinone, Azo-Farbstoffe, intramolekulare und intermolekulare Ladungstransfer-Farbstoffe und Farbstoffkomplexe, Tropone, Tetrazine, bis(Dithiolen)-Komplexe, bis(Benzen-Dithiolat)-Komplexe, Jodanilin-Farbstoffe, bis(S,O-Dithiolen)-Komplexe. Fluoreszente Proteine, wie z. B. das grün fluoreszierende Protein (GFP), und Modifikationen von GFP, welche andere Absorptions-/Emissionseigenschaften aufweisen, sind ebenfalls von Nutzen. Komplexe bestimmter Metalle der Selteneren Erden (z. B. Europium, Samarium, Terbium oder Dysprosium) werden in bestimmten Zusammenhängen verwendet ebenso wie fluoreszierende Nanokristalle (Quantum Dots).

[0022] Besondere Beispiele für verwendbare Chromophoren umfassen: Fluorescein, Sulforhodamin 101 (Texas Red), Rhodamin B, Rhodamin 6G, Rhodamin 19, Indocyaningrün, Cy2, Cy3, Cy3.5, Cy5, Cy5.5, Cy7, Marina Blue, Pacific Blue, Oregon Green 88, Oregon Green 514, Tetramethylrhodamin, Alexa Fluor 350, Alexa Fluor 430, Alexa Fluor 532, Alexa Fluor 546, Alexa Fluor 555, Alexa Fluor 568, Alexa Fluor 594, Alexa Fluor 633, Alexa Fluor 647, Alexa Fluor 660, Alexa Fluor 680, Alexa Fluor 700 und Alexa Fluor 750.

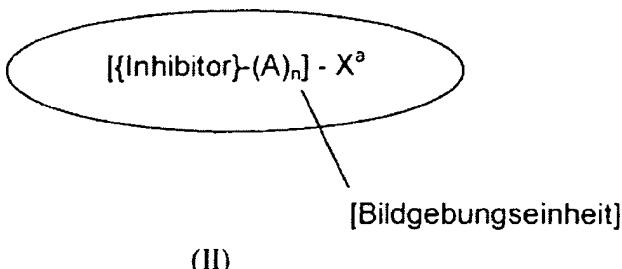
[0023] Besonders bevorzugt sind Farbstoffe, welche Absorptionsmaxima im sichtbaren Bereich oder im Nahinfrarotbereich aufweisen, also zwischen 400 nm und 3 μm , insbesondere zwischen 600 und 1300 nm.

[0024] Zu den optischen Bildgebungsmodalitäten und Messtechniken zählen ein-, aber nicht ausschließlich: Lumineszenzbildgebung; Endoskopie; Fluoreszenzendoskopie; optische Kohärenztomographie; Transmittance Imaging; Time Resolved Transmittance Imaging; konfokale Bildgebung; nichtlineare Mikroskopie; photoakustische Bildgebung; akusto-optische Bildgebung; Spektroskopie; Reflexionsspektroskopie; Interferometrie; Kohärenzinterferometrie; diffuse optische Tomographie und Fluoreszenz-vermittelte diffuse optische Tomographie (kontinuierliche Welle, Zeit-Domain- und Frequenz-Domain-System) und Messung von Lichtstreuung, Absorption, Polarisation, Lumineszenz, Fluoreszenzlebenszeit, Quanten-Ausbeute und Quanten-Quench.

[0025] Wenn die Bildgebungseinheit ein β -Emitter ist, der sich zur intravaskulären Detektion eignet, umfassen derartige geeignete β -Emitter die Radiometalle ^{67}Cu , ^{89}Sr , ^{90}Y , ^{153}Sm , ^{186}Re , ^{188}Re oder ^{192}Ir und die Nichtmetalle ^{32}P , ^{33}P , ^{38}S , ^{38}Cl , ^{39}Cl , ^{82}Br und ^{83}Br .

[0026] Die Bildgebungseinheit ist bevorzugt an die Y^1 -, Y^2 -, X^3 - oder X^1/X^2 -Position des MMPI's der Formel (I) und besonders bevorzugt an die Y^1 - oder Y^2 -Position angebunden, wobei die Y^1 -Position ganz besonders bevorzugt wird, wenn Y^1 für $-(\text{CH}_2)_w-(\text{C}=\text{O})-\text{Z}$ steht. Es ist besonders bevorzugt, dass die Bildgebungseinheit an die R^1 - oder R^2 -Gruppe einer $\text{Y}^1=-(\text{CH}_2)_w-(\text{C}=\text{O})-\text{NR}^1\text{R}^2$ -Einheit angebunden ist.

[0027] Die Bildungsmittel der vorliegenden Erfindung besitzen vorzugsweise die Formel II:



wobei:

{Inhibitor} der Metalloproteinase-Inhibitor der Formel (I) ist;

-(A)_n- eine Linkergruppe ist, wobei jedes A unabhängig steht für -CR₂-, -CR=CR-, -C-C-, -CR₂CO₂-, -CO₂CR₂-, -NRCO-, -CONR-, -NR(C=O)NR-, -NR(C=S)NR-, -SO₂NR-, -NRSO₂-, -CR₂OCR₂-, -CR₂SCR₂-, -CR₂NRCR₂- eine C₄₋₈-Cycloheteroalkylen-Gruppe, eine C₄₋₈-Cycloalkylen-Gruppe, eine C₅₋₁₂-Arylengruppe oder eine C₃₋₁₂-Heteroarylengruppe, eine Aminosäure, einen Zucker oder einen monodispersen Polyethylenglykol(PEG)-Bildungsblock;

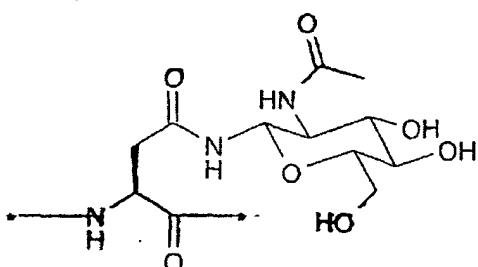
R unabhängig ausgewählt ist aus H, C₁₋₄-Alkyl, C₂₋₄-Alkenyl, C₂₋₄-Alkynyl, C₁₋₄-Alkoxyalkyl oder C₁₋₄-Hydroxyalkyl;

n eine ganze Zahl des Wertes 0 bis 10 ist; und

X^a steht für H, OH, Hal, NH₂, C₁₋₄-Alkyl, C₁₋₄-Alkoxy, C₁₋₄-Alkoxyalkyl, C₁₋₄-Hydroxyalkyl oder X^a die Bildungsgruppe ist.

[0028] Unter dem Begriff „Aminosäure“ ist eine L- oder D-Aminosäure, ein Aminosäureanalog (z. B. Naphthylalanin) oder ein Aminosäuremimetikum zu verstehen, das natürlich auftreten oder ausschließlich synthetischen Ursprungs sein kann und das ferner optisch rein sein kann, d. h. ein einziges und daher chirales Enantiomer, oder eine Mischung von Enantiomeren. Vorzugsweise sind die Aminosäuren der vorliegenden Erfindung optisch rein.

[0029] Unter dem Begriff „Zucker“ ist ein Mono-, Di- oder Trisaccharid zu verstehen. Geeignete Zucker umfassen wie folgt: Glukose, Galactose, Maltose, Mannose und Laktose. Gegebenenfalls kann der Zucker funktionalisiert werden, um ein leichtes Koppeln an Aminosäuren zu ermöglichen. So besteht die Möglichkeit, z. B. ein Glucosaminderivat einer Aminosäure via Peptidbindungen an andere Aminosäuren zu konjugieren. Ein Beispiel hierfür ist das (im Handel bei Novabiochem erhältliche) Glucosaminderivat von Asparagin:

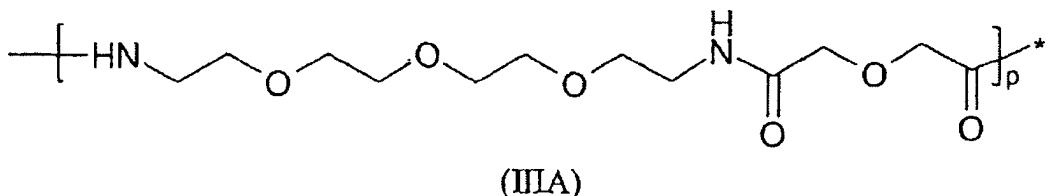


[0030] In Formel II stellt X^a vorzugsweise die Bildgebungseinheit dar, was den Vorteil hat, dass die Linkergruppe -(A)_n- der Formel II die Bildgebungseinheit von der aktiven Stelle des Metalloproteinase-Inhibitors distanziert. Dies ist von besonderer Wichtigkeit, wenn die Bildgebungseinheit verhältnismäßig umfangreich ist (wie etwa ein Metallkomplex oder ein Radiojodkomplex), damit die Bindung des Inhibitors an das MMP-Enzym nicht behindert wird. Dies lässt sich erreichen durch eine Kombination aus Flexibilität (z. B. einfache Alkylketten) – die umfangreiche Gruppe besitzt die Freiheit, sich selbst von der aktiven Stelle entfernt zu positionieren – und/oder Starrheit, z. B. durch Cycloalkyl- oder Aryl-Spacer, die den Metallkomplex von der aktiven Stelle weglenken.

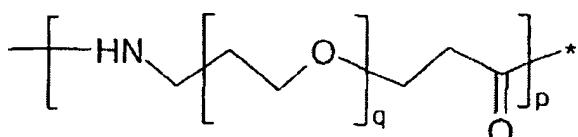
[0031] Auch die Art der Linkergruppe lässt sich einsetzen, um die Bioverteilung des Bildungsmittels zu verändern. So trägt z. B. die Einbringung von Ethergruppen in den Linker zur Minimierung der Plasmaproteinbindung bei. Wenn -(A)_n- einen Polyethylenglykol(PEG)-Bildungsblock oder eine Peptidkette aus 1 bis 10 Aminosäureresten umfasst, kann die Linkergruppe die Funktion erfüllen, die Pharmakokinetik und die Blut-Clearanceraten des Bildungsmittels in vivo zu modifizieren. Derartige „Biomodifikator“-Linkergruppen sind in der Lage, die Clearance des Bildungsmittels aus dem Hintergrundgewebe, z. B. Muskel oder Leber, und/oder

aus dem Blut zu beschleunigen oder zu senken, womit sie infolge der geringeren Hintergrundinterferenz für ein besseres diagnostisches Bild sorgen; dies erweist sich bei Anwendung zur Steigerung des Verbleibs im Blut als günstig zur Maximierung der Wahrscheinlichkeit, dass das Bildgebungsmittel mit dem Targeting-Biomarker an der pathologischen Stelle interagiert. Ferner kann eine Biomodifikator-Linkergruppe benutzt werden, um eine bestimmte Ausscheidungsroute, z. B. via die Nieren und nicht über die Leber, zu begünstigen.

[0032] Wenn $-(A)_n$ - eine Peptidkette aus 1 bis 10 Aminosäureresten umfasst, erfolgt die Auswahl der Aminosäurereste vorzugsweise aus Glycin, Lysin, Asparaginsäure, Glutaminsäure oder Serin. Umfasst $-(A)_n$ - eine PEG-Einheit, weist diese bevorzugt Einheiten auf, die aus der Oligomerisation der monodispersen PEG-Uke-Strukturen der Formel IIIA oder IIIB abgeleitet sind.



[0033] 17-Amino-5-oxo-6-aza-3,9,12,15-tetraoxaheptadecansäure der Formel IIIA, wobei p eine ganze Zahl von 1 bis 10 ist und wobei die C-terminale Einheit (*) mit der Bildgebungseinheit verbunden ist. Als Alternative dazu kann eine PEG-ähnliche Struktur verwendet werden, die auf einem Propionsäurederivat der Formel IIIB beruht:



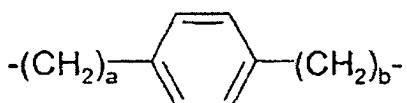
(IIIB)

wobei p so ist, wie für Formel IIIA definiert, und q eine ganze Zahl von 3 bis 15 ist.

[0034] In Formel IIIB ist p vorzugsweise 1 oder 2 und q ist vorzugsweise 5 bis 12.

[0035] Wenn die Linkergruppe weder PEG noch eine Peptidkette umfasst, weisen bevorzugte $-(A)_n$ -Gruppen eine Rückgratkette aus verlinkten Atomen auf, welche die $-(A)_n$ -Einheit aus 2 bis 10 Atomen, bevorzugt aus 2 bis 5 Atomen und besonders bevorzugt aus 2 oder 3 Atomen bilden. Eine minimale Linkergruppe-Rückgratkette aus 2 Atomen verleiht den Vorteil, dass die Bildgebungseinheit gut vom Metalloproteinase-Inhibitor getrennt ist, so dass jegliche Interaktion minimiert wird.

[0036] Nichtpeptid-Linkergruppen, wie z. B. Alkylengruppen oder Arylengruppen, besitzen den Vorteil, dass es zu keinen signifikanten Wasserstoffbindungsinteraktionen mit dem konjugierten MMP-Inhibitor kommt, so dass sich der Linker nicht um den MMP-Inhibitor wickelt. Bevorzugte Alkylen-Spacer-Gruppen sind $-(CH_2)_q-$, wobei q 2 bis 5 ist. Bevorzugte Arylen-Spacer besitzen die Formel:



wobei: a und b unabhängig 0, 1 oder 2 sind.

[0037] Die Linkergruppe $-(A)_n$ - umfasst vorzugsweise eine Diglycolsäure-Einheit, eine Maleimideinheit, eine Glutarsäure, Bernsteinsäure, eine auf Polyethylenglykol beruhende Einheit oder eine PEG-ähnliche Einheit der Formel IIIA.

[0038] Wenn die Bildgebungseinheit ein Metallion umfasst, ist das Metallion als Metallkomplex vorhanden. Deshalb besitzen derartige Metalloproteinase-Inhibitor-Konjugate mit Metallionen geeigneterweise die Formel IIa:

$\{\text{Inhibitor}\}-(A)_n - X^a$

[Metallkomplex]

(IIa)

wobei: A, n und X^a so sind, wie oben für Formel II definiert.

[0039] Unter dem Begriff „Metallkomplex“ ist ein Koordinationskomplex des Metallions mit einem oder mehreren Liganden zu verstehen. Stark bevorzugt wird, dass der Metallkomplex kinetisch stabil und daher „resistent gegenüber Transchelation“ ist, was bedeutet, dass er sich nicht leicht einem Ligandenaustausch mit anderen potentiell konkurrierenden Liganden für die Metallkoordinationsstellen unterzieht. Potentiell konkurrierende Liganden umfassen die Hydroxamsäure-MMPi-Einheit selbst zuzüglich weiterer Hilfsstoffe bei der Herstellung in vitro (z. B. bei der Herstellung verwendete Radioprotektoren oder antimikrobielle Konservierungsstoffe) oder endogene Verbindungen in vivo (z. B. Glutathion, Transferrin oder Plasmaproteine).

[0040] Die Metallkomplexe der Formel IIa sind aus Konjugaten von Liganden der Formel IIb abgeleitet:

$\{\text{Inhibitor}\}-(A)_n - X^a$

[Ligand]

(IIb)

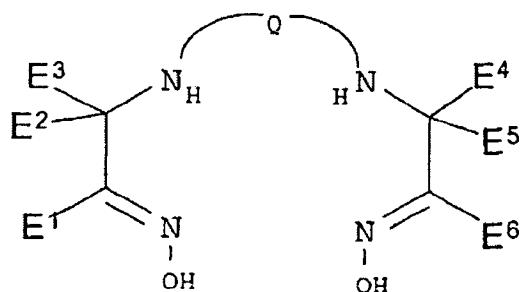
wobei: A, n und X^a so sind, wie oben für Formel II definiert.

[0041] Zu den Liganden, die sich zur Verwendung in der vorliegenden Erfindung eignen und gegenüber Transchelation resistente Metallkomplexe bilden, zählen: Chelatbildner, bei denen 2–6, vorzugsweise 2–4 Metalldonatoratome so angeordnet sind, dass sich 5- oder 6-gliedrige Chelatringe ergeben (durch Besitz eines nichtkoordinierenden Rückgrats aus entweder Kohlenstoffatomen oder nichtkoordinierenden Heteroatomen, welche die Metalldonatoratome verlinken) oder einzähnige Liganden, welche Donatoratome umfassen, die stark an das Metallion binden, wie z. B. Isonitrile, Phosphine oder Diazenide. Zu den Beispielen für Donatoratomtypen, die als Teil von Chelatbildnern gut an Metalle binden, gehören: Amine, Thiole, Amide, Oxime und Phosphine. Phosphine bilden derart starke Metallkomplexe, dass selbst einzähnige oder zweizähnige Phosphine geeignete Metallkomplexe bilden. Die lineare Geometrie von Isonitrilen und Diazeniden fällt so aus, dass sie sich nicht ohne Weiteres zur Eingliederung in Chelatbildner hergeben, und daher typischerweise als einzähnige Liganden benutzt werden. Beispiele für geeignete Isonitrile umfassen einfache Alkyisonitrile, z. B. tert-Butylisonitril und Ethersubstituierte Isonitrile, z. B. Mibi (d. h. 1-Isocyano-2-methoxy-2-methylpropan). Zu den Beispielen für geeignete Phosphine zählen Tetrofosmin und einzähnige Phosphine, z. B. tris(3-methoxypropyl)phosphin. Beispiele für geeignete Diazenide schließen die HYNIC-Serie von Liganden ein, d. h. Hydrazin-substituierte Pyridine oder Nicotinamide.

[0042] Bevorzugte Liganden sind Chelatbildner und einzähnige Liganden, die kinetisch stabile Metallkomplexe bilden, wie z. B. Phosphine, Isonitrile und Diazenide. Chelatbildner stellen besonders bevorzugte Liganden dar, wie oben definiert.

[0043] Beispiele für geeignete Chelatbildner bezüglich Technetium, die gegenüber Transchelation resistente Metallkomplexe bilden, umfassen ein-, aber nicht ausschließlich:

(i) Diamindioxime der Formel:



wobei E^1 – E^6 jeweils unabhängig für eine R'-Gruppe stehen;

jedes R' steht für H oder C_{1-10} -Alkyl, C_{3-10} -Alkylaryl, C_{2-10} -Alkoxyalkyl, C_{1-10} -Hydroxyalkyl, C_{1-10} -Fluoroalkyl, C_{2-10} -Carboxyalkyl oder C_{1-10} -Aminoalkyl, oder zwei oder mehr R'-Gruppen zusammen mit den Atomen, an die sie angebunden sind, einen carbocyclischen, heterocyclischen, gesättigten oder ungesättigten Ring bilden und wobei eine oder mehrere der R'-Gruppen an den MMP-Inhibitor konjugiert ist;

und Q eine Brückengruppe der Formel $-(J)_f$ ist;

wobei f 3, 4 oder 5 ist und jedes J unabhängig steht für $-O-$, $-NR'$ - oder $C(R')_2-$, vorausgesetzt, dass $-(J)_f$ ein Maximum von einer J-Gruppe enthält, die $-O-$ oder NR' - ist.

Bevorzugte Q-Gruppen lauten wie folgt:

Q = $-(CH_2)(CHR')(CH_2)-$ d. h. Propylenaminoxim oder PnAO-Derivate;

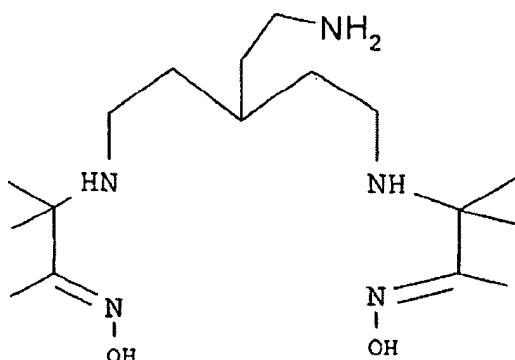
Q = $-(CH_2)_2(CHR')(CH_2)_2-$ d. h. Pentylenaminoxim oder PentAO-Derivate;

Q = $-(CH_2)_2NR'(CH_2)_2-$.

[0044] E^1 bis E^6 sind bevorzugt ausgewählt aus: C_{1-3} -Alkyl, Alkylaryl, Alkoxyalkyl, Hydroxyalkyl, Fluoroalkyl, Carboxyalkyl oder Aminoalkyl. Besonders bevorzugt ist jede E^1 - bis E^6 -Gruppe CH_3 .

[0045] Der MMP-Inhibitor ist bevorzugt an entweder die E^1 - oder E^6 -R'-Gruppe oder an eine R'-Gruppe der Q-Einheit konjugiert. Besonders bevorzugt ist der MMP-Inhibitor an eine R'-Gruppe der Q-Einheit konjugiert. Wenn der MMP-Inhibitor an eine R'-Gruppe der Q-Einheit konjugiert ist, befindet sich die R'-Gruppe vorzugsweise an der Brückenkopfposition. In diesem Fall steht Q bevorzugt für $-(CH_2)(CHR')(CH_2)-$, $-(CH_2)_2(CHR')(CH_2)_2-$ oder $-(CH_2)_2NR'(CH_2)_2-$, besonders bevorzugt für $-(CH_2)_2(CHR')(CH_2)_2-$.

[0046] Ein ganz besonders bevorzugter bifunktioneller Diamindioxim-Chelator besitzt die Formel:



(Chelator 1)

so dass der MMP-Inhibitor via die $-CH_2CH_2NH_2$ -Brückenkopfgruppe konjugiert ist.

(ii) N_3S -Liganden mit einem Thioltriamid-Donorsatz, z. B. MAG₃ (Mercaptoacetyltriglycin) und verwandte Liganden; oder mit einem Diamidpyridinthiol-Donorsatz, z. B. Pica;

(iii) N_2S_2 -Liganden mit einem Diamindithiol-Donorsatz, z. B. BAT oder ECD (d. h. Ethylcysteinat-Dimer), oder mit einem Amidamindithiol-Donorsatz, z. B. MAMA;

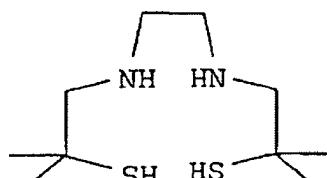
(iv) N_4 -Liganden, die Offenkettens- oder makrocyclische Liganden sind, die einen Tetramin-, Amidtriamin- oder Diamiddiamin-Donorsatz aufweisen, z. B. Cyclam, Monooxocyclam oder Dioxocyclam.

(v) N_2O_2 -Liganden mit einem Diamindiphenol-Donorsatz.

[0047] Die oben beschriebenen Liganden eignen sich besonders für die Technetium-Komplexierung, z. B. ^{94m}Tc oder ^{99m}Tc , und sind ausführlicher beschrieben von Jurisson, u. a. [Chem. Rev. 99 2205–2218 (1999)]. Außerdem sind die Liganden für andere Metalle nützlich, z. B. für Kupfer (^{64}Cu oder ^{67}Cu), Vanadium (z. B. ^{48}V), Eisen (z. B. ^{52}Fe) oder Kobalt (z. B. ^{55}Co). Weitere geeignete Liganden sind erläutert in Sandoz WO 91/01144,

was Liganden einschließt, die besonders für Indium, Yttrium und Gadolinium taugen, vor allem Liganden aus makrocyclischem Aminocarboxylat und Aminophosphonsäure. Liganden, welche nichtionische (d. h. neutrale) Metallkomplexe aus Gadolinium bilden, sind bekannt und in US 4885363 beschrieben. Wenn es sich beim Radiometallion um Technetium handelt, ist der Ligand vorzugsweise ein Chelatbildner, der vierzählig ist. Bevorzugte Chelatbildner für Technetium sind die Diamindioxime oder jene, die einen N_2S_2 - oder N_3S -Donorsatz aufweisen, wie oben dargelegt.

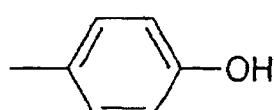
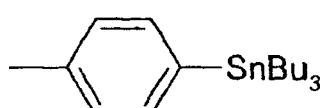
[0048] Von mehrzähnigen Hydroxamsäuren, welche Chelatbildner sind, ist bekannt, dass sie Metallkomplexe mit Radiometallen bilden, einschließlich ^{99m}TC [Safavy, u. a., Bioconj. Chem., 4, 194–198 (1993)]. Die Erfinder haben herausgefunden, dass im Fall von einzähnigen Hydroxamsäuren, bei denen z. B. X^3 in Formel (1) für H steht, der Hydroxamsäure-MMPi effizient mit dem konjugierten Liganden um das Radiometall konkurrieren kann. Steht X^3 für H, ist daher besondere Sorgfalt bei der Auswahl des Liganden vonnöten, d. h. es ist erforderlich, einen Liganden auszuwählen, der effizient mit dem Hydroxamsäure-MMPi um das Radiometall konkurriert, damit die Bildung unerwünschter [Hydroxamsäure]-[Radiometall]-Metallkomplexe verhindert wird. Zu den geeigneten Liganden gehören: Phosphine; Isonitrile; N4-Chelatbildner mit einem Tetramin-, Amidtriamin- oder Diamiddiamin-Donorsatz; N_3S -Chelatbildner mit einem Thioltriamid-Donor oder einem Diamidpyridinthiol-Donorsatz; oder N_2S_2 -Chelatbildner mit einem Diamindithiol-Donorsatz, wie z. B. BAT, oder einem Amidindithiol-Donorsatz, wie z. B. MAMA. Zu den bevorzugten Liganden zählen: die oben beschriebenen N4-, N_3S - und N_2S_2 -Chelatbildner, besonders bevorzugt N4-Tetramin und N_2S_2 -Diamindithiol- oder Diamidthiol-Chelatbildner, ganz besonders bevorzugt der als BAT bekannte N_2S_2 -Diamindithiol-Chelator:



BAT

[0049] Es wird stark bevorzugt, dass der Matrix-Metalloproteinase-Inhibitor an den Metallkomplex in solch einer Weise gebunden ist, dass die Verknüpfung im Blut nicht leicht im Metabolismus umgesetzt wird, da dies in der Abspaltung des Metallkomplexes resultieren würde, bevor der markierte Metalloproteinase-Inhibitor die gewünschte Zielstelle in vivo erreicht hat. Deshalb ist der Matrix-Metalloproteinase-Inhibitor vorzugsweise via Verknüpfungen, die nicht rasch metabolisiert werden, an die Metallkomplexe der vorliegenden Erfindung kovalent gebunden.

[0050] Handelt es sich bei der Bildgebungseinheit um ein radioaktives Halogen, z. B. Jod, wird der MMP-Inhibitor passend ausgewählt, so dass er Folgendes umfasst: ein nichtradioaktives Halogenatom, z. B. ein Aryljodid oder -bromid (um den Radiojodaustausch zu ermöglichen); einen aktivierten Arylring (z. B. eine Phenolgruppe); eine organometallische Vorläuferverbindung (z. B. Trialkylzinn oder Trialkylsilyl); einen organischen Vorläufer, z. B. Triazene oder eine gute Austrittsgruppe für nukleophile Substitution, z. B. Jodoniumsalz. Verfahren zum Einbringen radioaktiver Halogene (einschließlich ^{123}I und ^{18}F) sind beschrieben von Bolton [J. Lab. Corp. Radiopharm., 45, 485–528 (2002)]. Beispiele für zweckmäßige Arylgruppen, an welche radioaktive Halogene, insbesondere Jod angebunden werden können, sind nachstehend aufgeführt:



[0051] Beide Gruppen enthalten Substituenten, die eine leichte Radiojod-Substitution auf dem aromatischen Ring ermöglichen. Alternative Substituenten, welche radioaktives Jod enthalten, lassen sich durch direkte Jodierung via Radiohalogen-Austausch synthetisieren, z. B.:

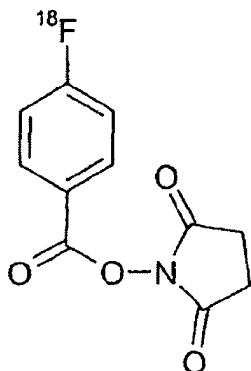


[0052] Handelt es sich bei der Bildgebungseinheit um ein radioaktives Jodisotop, ist das Radiojod vorzugsweise via eine direkte kovalente Bindung an einen aromatischen Ring, etwa einen Benzolring oder eine Vinylgruppe, gebunden, da bekannt ist, dass an gesättigte aliphatische Systeme gebundene Jodatome zu in vivo Metabolismus und daher zu Verlust des Radiojods neigen.

[0053] Wenn die Bildgebungseinheit ein radioaktives Fluorisotop (z. B. ^{18}F) umfasst, kann die Radiohalogenierung via direktes Markieren ausgeführt werden, wobei die Reaktion von ^{18}F -Fluorid mit einem geeigneten Vorläufer genutzt wird, der eine gute Austrittsgruppe aufweist, z. B. ein Alkylbromid, Alkylmesylat oder Alkyltosylat. Überdies kann ^{18}F eingebracht werden durch N-Alkylierung von Aminvorläufern mit Alkylierungsagentien, etwa $^{18}\text{F}(\text{CH}_2)_3\text{OMs}$ (wobei Ms Mesylat ist), damit sich $\text{N}(\text{CH}_2)_3^{18}\text{F}$ ergibt, oder durch O-Alkylierung von Hydroxylgruppen mit $^{18}\text{F}(\text{CH}_2)_3\text{OMs}$ oder $^{18}\text{F}(\text{CH}_2)_3\text{Br}$. Ferner besteht die Möglichkeit, ^{18}F mittels Alkylierung von N-Haloacetylgruppen mit einem $^{18}\text{F}(\text{CH}_2)_3\text{OH}$ -Reaktant einzubringen, damit $-\text{NH}(\text{CO})\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_3^{18}\text{F}$ -Derivate entstehen. In Bezug auf Arylsysteme stellt die nukleophile ^{18}F -Fluorid-Verlagerung aus einem Aryldiazoniumsalz, einer Arylnitroverbindung oder einem quaternären Arylammmoniumsalz geeignete Routen zu Aryl- ^{18}F -Derivaten dar.

[0054] Primäramin enthaltende MMPi's der Formel (I) können ebenfalls mit ^{18}F markiert werden, und zwar durch reduktive Aminierung mittels ^{18}F -C₆H₄-CHO, wie gelehrt durch Kahn, u. a. [J. Lab. Corp. Radiopharm. 45, 1045–1053 (2002)] und Borch, u. a. [J. Am. Chem. Soc. 93, 2897 (1971)]. Diese Herangehensweise lässt sich auch nutzbringend auf Arylprimäramine anwenden, z. B. auf Verbindungen, welche Phenyl-NH₂- oder Phenyl-CH₂NH₂-Gruppen umfassen.

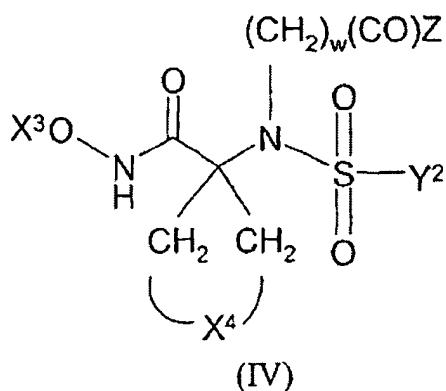
[0055] Auch Amin enthaltende MMP-Inhibitoren der Formel (I) lassen sich mit ^{18}F markieren, und zwar durch Reaktion mit ^{18}F -markierten Aktivestern, beispielsweise:



damit sich mit Amidbindung verknüpfte Produkte ergeben. Der dargestellte N-Hydroxy-Succinimidester und seine Verwendung zur Markierung von Peptiden wird gelehrt von Vaidyanathan, u. a. [Nucl. Med. Biol., 19 (3), 275–281 (1992)] und Johnstrom, u. a. [Clin. Sci., 103 (Suppl. 48), 45–85 (2002)]. Weitere Einzelheiten über synthetische Routen zu ^{18}F -markierten Derivaten sind beschrieben von Bolton, J. Lab. Corp. Radiopharm., 45, 485–528 (2002).

[0056] Die Einbringung von PET-Radioisotopmarkierungen an der X³-Position lässt sich z. B. durch O-Alkylierung des entsprechenden Hydroxamsäurederivats (X¹ = H) erreichen, und zwar mit Triflatderivaten, z. B. $^{11}\text{CH}_3\text{OSO}_2\text{CF}_3$, wie gelehrt von Fei, u. a. [J. Lab. Corp. Radiopharm., 46, 343–351 (2003)] oder Zheng, u. a. [Nucl. Med. Biol., 30, 753–760 (2003)], oder mit den oben erläuterten ^{18}F O-Alkylierungsreagenzien. Ferner können ^{11}C PET-Radiomarkierungen durch Verwendung der obigen Triflatderivate eingebracht werden, um phenolische Hydroxylgruppen zu alkylieren, wie von Zhen, u. a. gelehrt [Nucl-Med Biol, 31, 77–85 (2004)]. Weitere Methoden zur Markierung mit ^{11}C werden gelehrt von Antoni, u. a. [Kapitel 5, Seiten 141–194 in: Handbook of Radiopharmaceuticals, M. J. Welch und C. S. Redvanly (Herausgeber), Wiley (2003)].

[0057] Bevorzugte Matrix-Metalloproteinase-Inhibitoren der vorliegenden Erfindung besitzen die Formel IV:



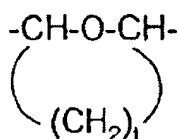
wobei:

Y^2 , w und Z so sind, wie oben definiert;

X^3 steht für H , CH_3 oder CH_2F ;

X^4 steht für $-(\text{CH}_2)_m-$, wobei m steht für 1, 2 oder 3, $-\text{CH}_2\text{OCH}_2-$ oder X^5 , wobei

X^5 steht für



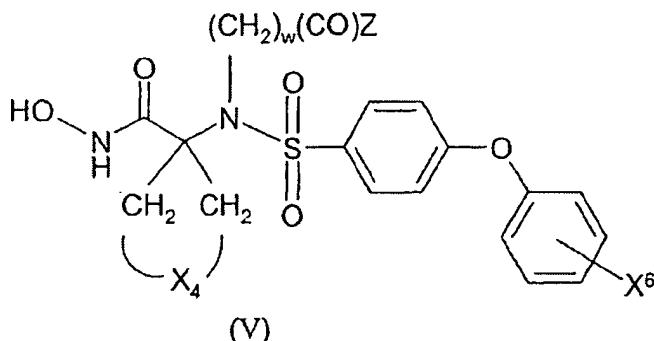
wobei t für 2 oder 3 steht.

[0058] In Formel (IV) steht X^3 bevorzugt für H oder CH_3 , besonders bevorzugt für H . X^4 steht bevorzugt für $-(\text{CH}_2)_2-$, $-\text{CH}_2\text{OCH}_2-$ oder für eine X^6 -Gruppe, bei welcher t gleich 2 ist. Besonders bevorzugt steht X^4 für $-(\text{CH}_2)_2-$ oder $-\text{CH}_2\text{OCH}_2-$. Bevorzugte Y^2 -, w - und Z -Gruppen der Formel (IV) sind so, wie oben für Formel (I) beschrieben.

[0059] Wenn das Bildgebungsmittel einen MMP-Inhibitor der Formel IV umfasst und die Bildgebungseinheit ein Gamma-emittierendes radioaktives Halogen ist, wird die Bildgebungseinheit bevorzugt an entweder den Y^2 -, Z - oder X^4 -Substituenten und besonders bevorzugt an den Y^2 - oder Z -Substituenten angebunden. Handelt es sich bei der Bildgebungseinheit um ein Positronen emittierendes radioaktives Nichtmetall, ist dieses bevorzugt an den X^3 -, X^4 , Y^2 - oder Z -Substituenten und besonders bevorzugt an der X^4 - oder der Z -Position angebunden. Wenn X^3 für H steht, ist das Positronen emittierende radioaktive Nichtmetall bevorzugt an der Z - oder X^4 -Position und besonders bevorzugt an der Z -Position angebunden.

[0060] Handelt es sich bei der Bildgebungseinheit um ein radioaktives oder paramagnetisches Metallion, ist entweder der X^4 - oder der Z -Substituent bevorzugt an der Bildgebungseinheit angebunden oder umfasst diese. Besonders bevorzugt ist der Z -Substituent der Formel IV an der Bildgebungseinheit aus einem radioaktiven oder paramagnetischen Metallion angebracht oder umfasst diese.

[0061] Bevorzugte Matrix-Metalloproteinase-Inhibitoren der vorliegenden Erfindung besitzen die Formel V:



wobei X^6 für Hal, R^1 oder OR^1 steht, wobei R^1 für C_{1-3} -Alkyl oder C_{1-3} -Fluoroalkyl steht.

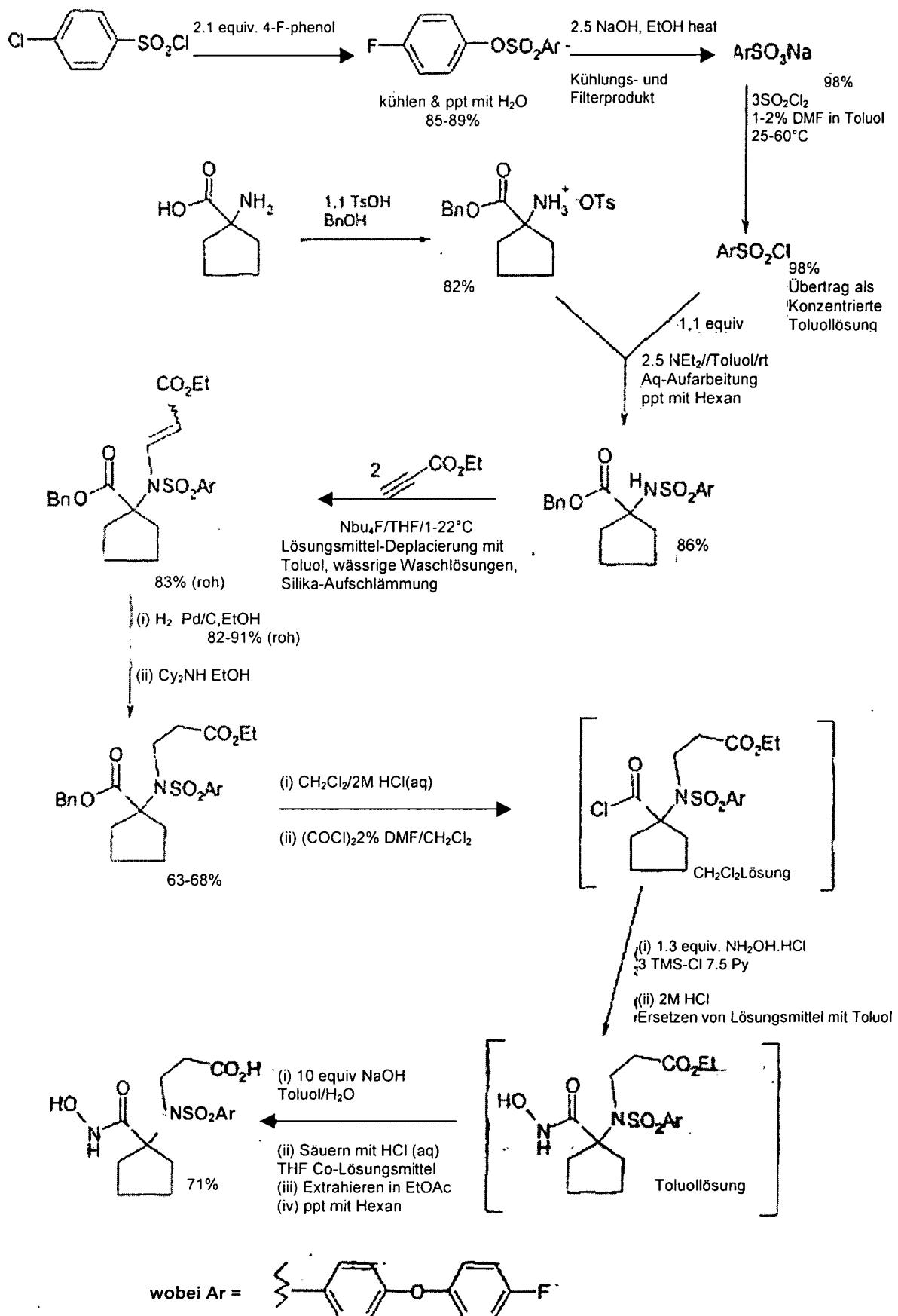
[0062] Bevorzugte X^4 , w - und Z -Gruppen der Formel (V) sind so, wie oben für Formel (IV) beschrieben. w steht besonders bevorzugt für 2. Ferner steht X^6 bevorzugt für F und besonders bevorzugt für 4-Fluoro.

[0063] Die MMP-Inhibitor-Verbindungen der vorliegenden Erfindung können so hergestellt werden, wie (umseitig) in Schema 1 zusammengefasst.

[0064] Die Synthese der analogen MMPi-Verbindung 27 ist in EP 0895988 A1 und in Beispiel 5 dargelegt. Weitere Referenzen zu Synthesen sind zu finden im Bericht von Skiles, u. a. [Curr. Med. Chem., 8 425–474 (2001)].

[0065] Wenn das Bildgebungsmittel der vorliegenden Erfindung ein radioaktives oder paramagnetisches Metallion umfasst, ist das Metallion zweckgemäß in Form eines Metallkomplexes vorhanden. Passenderweise erfolgt die Herstellung derartiger Metallkomplexe durch Reaktion des Konjugats der Formel IIb mit dem geeigneten Metallion. Das Liganden- oder Chelatorkonjugat des MMP-Inhibitors der Formel IIb kann via die bifunktionelle Chelatmethode hergestellt werden. So ist die Herstellung von Liganden oder Chelatbildnern wohlbekannt, an denen eine funktionelle Gruppe (jeweils „bifunktionelle Linker“ oder „bifunktionelle Chelate“) angebunden ist. Zu den funktionellen Gruppen, die angebunden worden sind, gehören: Amin, Thiocyanat, Maleimid und Aktivester, etwa N-Hydroxy-Succinimid oder Pentafluorphenol.

Schema 1: Synthese der Verbindung 1



[0066] Der Chelator 1 der vorliegenden Erfindung stellt ein Beispiel für ein Aminfunktionalisiertes bifunktionelles

les Chelat dar. Bifunktionelle Chelate, basierend auf Thiolactonen, die sich zur Herstellung von BAT-Chelator-konjugaten verwenden lassen, sind beschrieben von Baidoo, u. a. [Bioconj. Chem., 5, 114–118 (1994)]. Bifunktionelle Chelate, die sich zur Komplexbildung mit einem Technetium- oder Rheniumtricarbonylkern eignen, sind beschrieben von Stichelberger, u. a. [Versatile synthetic approach to new bifunctional chelating agents tailor made for labeling with the fac-[M(CO)₃]⁺ core (M = Tc, ^{99m}Tc, Re): synthesis, *in vitro*, and *in vivo* behavior of the model complex [M(APPA)(CO)₃] (appa = [(5-amino-pentyl)-pyridin-2-yl-methylamino]-acetic acid); Nucl. Med. Biol., 30, 465–470 (2003)]. Bifunktionelle HYNIC-Liganden sind beschrieben von Edwards, u. a. [Bioconj. Chem., 8, 146 (1997)]. Zwecks Bildung des gewünschten Konjugats können solche bifunktionellen Chelate mit entsprechenden funktionellen Gruppen auf dem Matrix-Metalloproteinase-Inhibitor umgesetzt werden. Zu den geeigneten funktionellen Gruppen auf dem Inhibitor gehören: Carboxyle (für die Amidbindungsbildung mit einem Amin-funktionalisierten bifunktionellen Chelator); Amine (Amidbindungsbildung mit einem Carboxyl- oder Aktivester-funktionalisierten bifunktionellen Chelator); Halogene, Mesylate und Tosylate (für die N-Alkylierung eines Aminfunktionalisierten bifunktionellen Chelators) und Thiole (für die Reaktion mit einem Maleimid-funktionalisierten bifunktionellen Chelator).

[0067] Die Radiomarkierung der MMP-Inhibitoren der vorliegenden Erfindung lässt sich mithilfe von „Vorläufern“ zweckgemäß vornehmen. Umfasst die Bildgebungseinheit ein Metallion, umfassen derartige Vorläufer geeigneterweise „Konjugate“ des MMP-Inhibitors mit einem Liganden, wie nachstehend bezüglich der vierten Ausführungsform geschildert. Wenn die Bildgebungseinheit ein Nichtmetall-Radioisotop umfasst, d. h. ein Gamma-emittierendes radioaktives Halogen oder ein Positronen emittierendes radioaktives Nichtmetall, umfassen derartige „Vorläufer“ geeigneterweise ein nichtradioaktives Material, das so entworfen ist, dass eine chemische Reaktion mit einer passenden chemischen Form des gewünschten Nichtmetall-Radioisotops in der minimalen Anzahl von Schritten (idealerweise einem einzigen Schritt) und ohne Notwendigkeit für eine erhebliche Reinigung (idealerweise ohne weitere Reinigung) durchgeführt werden kann, damit sich das gewünschte radioaktive Produkt ergibt. Derartige Vorläufer lassen sich zweckgemäß mit guter chemischer Reinheit erhalten und gegebenenfalls in steriler Form bereitstellen.

[0068] Es ist vorgesehen, dass „Vorläufer“ (einschließlich Ligandenkonjugate) zur Radiomarkierung der MMP-Inhibitoren der vorliegenden Erfindung folgendermaßen hergestellt werden können: Die terminale -OH-Gruppe eines -N(CH₂)₂OH oder eines -N(CH₂)₃OH-Derivats kann zu einer Tosyl- oder Mesylgruppe oder einem Bromderivat gewandelt werden, die bzw. das sich zum Konjugieren eines Amin-funktionalisierten Chelators einsetzen lässt. Als Alternative dazu besteht die Möglichkeit, derartige Tosylat-, Mesylat- oder Bromgruppen der beschriebenen Vorläufer mit [¹⁸F]Fluor zu deplacieren, so dass ein ¹⁸F-markiertes PET-Bildungsmittel entsteht.

[0069] Radiojod-Derivate können aus den entsprechenden Phenolvorläufern hergestellt werden. Alkylbromid-Derivate sind für die N-Alkylierung eines Amin-funktionalisierten Chelators verwendbar. Phenyljodid-Derivate lassen sich zu organometallischen Vorläufern für Radiojodierungsverbindungen, z. B. Trialkylzinn oder Aryltrimethylsilyl(TMS)-Vorläufern, wandeln. Phenyljodid-Derivate können auch zu einem Aryljodonium-Vorläufer für die Radiofluorierung mit ¹⁸F-Fluorid gewandelt werden.

[0070] Primäramin-funktionalisierte MMP-Inhibitoren können mit Säureanhydriden umgesetzt werden, so dass sich N-funktionalisierte Vorläufer des Typs -N(CO)(CH₂)₃CO₂H ergeben, die sich dann zu bifunktionellen, Amin enthaltenden Liganden konjugieren lassen. Derartige Primäramin-substituierte MMPi's sind herstellbar durch Alkylierung von Bromderivaten mit Benzylamin, gefolgt von der Entfernung der Benzylschutzgruppe unter Standardbedingungen, z. B. einer Hydrierung mithilfe eines Palladiumkatalysators auf Kohle.

[0071] Amin-funktionalisierte MMPi's können direkt oder via einen Linker mit einem Carboxyl- oder Aktivester-funktionalisierten bifunktionellen Chelator konjugiert werden. Solche Verbindungen sind auch mit einem Alkylierungsmittel umsetzbar, das sich für die ¹⁸F-Markierung eignet, z. B. ¹⁸F(CH₂)₂OTs (wobei Ts eine Tosylatgruppe ist) oder ¹⁸F(CH₂)₂OMs (wobei Ms eine Mesylatgruppe ist), so dass das entsprechende N-funktionalisierte Aminderivat mit einem N(CH₂)₂¹⁸F-Substituenten entsteht. Als Alternative dazu kann das Amin zuerst mit Chloracetylchlorid umgesetzt werden, damit sich das -N(CO)CH₂Cl N-derivatisierte Amid ergibt, gefolgt von einer Reaktion mit HS(CH₂)₃¹⁸F oder HO(CH₂)₃¹⁸F, so dass jeweils die Produkte -N(CO)CH₂S(CH₂)₃¹⁸F und -N(CO)CH₂O(CH₂)₃¹⁸F entstehen.

[0072] Die Radiometallkomplexe der vorliegenden Erfindung können hergestellt werden, indem eine Lösung aus dem Radiometall im passenden Oxidationszustand mit dem Ligandenkonjugat der Formel IIa beim passenden PH-Wert ungesetzt wird. Vorzugsweise enthält die Lösung einen Liganden, der schwach mit dem Metall komplexiert (z. B. Gluconat oder Citrat), was bedeutet, dass die Herstellung des Radiometallkomplexes

durch Ligandenaustausch oder Transchelation erfolgt. Solche Bedingungen sind nützlich, um unerwünschte Nebenreaktionen, etwa eine Hydrolyse des Metallions, zu unterdrücken. Handelt es sich beim Radiometallion um ^{99m}Tc , besteht das übliche Ausgangsmaterial in Natriumpertechnetat aus einem ^{99}Mo -Generator. Technetium ist in ^{99m}Tc -Pertechnetat im Tc(VII)-Oxidationszustand vorhanden, der verhältnismäßig unreakтив ist. Deswegen erfordert die Herstellung von Technetiumkomplexen mit niedrigerem Oxidationszustand von Tc(I) bis Tc(V) gewöhnlich die Zugabe eines geeigneten pharmazeutisch annehmbaren Reduktionsmittels, z. B. Natriumdithionit, Natriumbisulfit, Ascorbinsäure, Formamidinsulfinsäure, Zinnion, Fe(II) oder Cu(II), um die Komplexbildung zu erleichtern. Beim pharmazeutisch annehmbaren Reduktionsmittel handelt es sich bevorzugt um ein Zinnsalz, besonders bevorzugt um Zinnchlorid, Zinnfluorid, oder Zinntartrat.

[0073] Geht es bei der Bildgebungseinheit um einen hyperpolarisierten NMR-aktiven Nukleus, etwa ein hyperpolarisiertes ^{13}C -Atom, ist die gewünschte hyperpolarisierte Verbindung herstellbar durch Polarisationsaustausch von einem hyperpolarisierten Gas (etwa ^{129}Xe oder ^3He) zu einem geeigneten ^{13}C -angereicherten Hydroxamsäurederivat.

[0074] In einem zweiten Aspekt bietet die vorliegende Erfindung eine pharmazeutische Zusammensetzung, die das Bildgebungsmittel, wie oben beschrieben, zusammen mit einem biokompatiblen Träger in einer Form umfasst, die sich zur Verabreichung an einen Säuger eignet. Der „biokompatible Träger“ ist ein Fluid, insbesondere eine Flüssigkeit, in der das Bildgebungsmittel suspendiert oder gelöst sein kann, so dass die Zusammensetzung physiologisch tolerierbar ist, was bedeutet, dass sie an den Körper eines Säugers ohne Toxizität oder übermäßige Unannehmlichkeiten verabreicht werden kann. Beim biokompatiblen Träger handelt es sich passenderweise um eine injizierbare Trägerflüssigkeit, z. B. steriles, Pyrogen-freies Wasser zur Injektion; eine wässrige Lösung, z. B. eine Salzlösung (die vorteilhafterweise so ausgeglichen werden kann, dass das Endprodukt zur Injektion entweder isotonisch oder nicht hypotonisch ist); eine wässrige Lösung aus einer oder mehreren Tonizitätregulierenden Substanzen (z. B. Salze von Plasmakationen mit biokompatiblen Gegenionen), Zucker (z. B. Glukose oder Saccharose), Zuckeralkohole (z. B. Sorbit oder Mannitol), Glykole (z. B. Glycerol) oder andere nichtionische Polyoxyalcoholen (z. B. Polyethylenglykole, Propylenglykole und dergleichen).

[0075] In einem dritten Aspekt bietet die vorliegende Erfindung eine radiopharmazeutische Zusammensetzung, die das Bildgebungsmittel obiger Beschreibung, bei radioaktiver Bildgebungseinheit, zusammen mit einem biokompatiblen Träger (wie vorstehend definiert) in einer Form umfasst, die sich zur Verabreichung an einen Säuger eignet. Die Bereitstellung solcher Radiopharmaka erfolgt zweckgemäß in einem Behälter, der mit einem Siegel versehen ist, das sich für eine oder mehrere Punktionsnadeln eignet (z. B. ein aufgekrimpter Septum-Versiegelungsverschluss), während die sterile Integrität gewahrt bleibt. Derartige Behälter können eine oder mehrere Patientendosen enthalten. Bevorzugte Mehrdosenbehälter umfassen ein einziges Bulk-Vial (z. B. mit einem Volumen von 10 bis 30 cm³), welches mehrere Patientendosen enthält, wobei sich einzelne Patientendosen mittels klinisch unbedenklicher Spritzen entnehmen lassen, und zwar der klinischen Situation entsprechend in verschiedenen zeitlichen Abständen während der viablen Lebenszeit des Präparats. Vorgefüllte Spritzen sind so entworfen, dass sie eine einzige humane Dosis enthalten, weshalb sie vorzugsweise Einwegspritzen sind, aber auch andere Spritzen, die für die klinische Anwendung taugen, sind benutzbar. Gegebenenfalls kann die vorgefüllte Spritze mit einem Spritzenschild ausgestattet sein, um den Bediener vor radioaktiver Strahlung zu schützen. Entsprechende radiopharmazeutische Spritzenschilder sind auf diesem Gebiet bekannt und bestehen bevorzugt aus Blei oder Wolfram. Wenn die Bildgebungseinheit ^{99m}Tc umfasst, liegt der für ein diagnostisches Bildgebungsradiofarmakon geeignete Radioaktivitätsgehalt im Bereich von 180 bis 1500 MBq bezüglich ^{99m}Tc , und zwar in Abhängigkeit von der Stelle, von der die Bildgebung in vivo erfolgen soll, sowie der Aufnahme und dem Ziel-zu-Hintergrund-Verhältnis.

[0076] Es besteht die Möglichkeit, die Radiopharmaka der vorliegenden Erfindung aus Kits herzustellen, wie nachstehend in der fünften und sechsten Ausführungsform beschrieben. Als Alternative dazu kann die Herstellung der Radiopharmaka unter aseptischen Bedingungen erfolgen, damit sich das gewünschte sterile Produkt ergibt. Ferner können die Radiopharmaka unter nicht sterilen Bedingungen hergestellt werden, gefolgt von einer abschließenden Sterilisation z. B. mittels Gammastrahlen, Autoklavierung, Trockenhitze oder chemischer Behandlung (z. B. mit Ethylenoxid). Vorzugsweise werden die Radiopharmaka der vorliegenden Erfindung aus Kits hergestellt.

[0077] In einem vierten Aspekt bietet die vorliegende Erfindung ein Konjugat des Matrix-Metalloproteinase-Inhibitors der Formel (I) mit einem Liganden. Besagte Ligandenkonjugate sind für die Herstellung von Matrix-Metalloproteinase-Inhibitoren von Nutzen, die entweder mit einem radioaktiven Metallion oder einem paramagnetischen Metallion markiert sind. Bevorzugt besitzt das Ligandenkonjugat die Formel IIa, wie oben definiert. Besonders bevorzugt besitzt der MMP-Inhibitor des Ligandenkonjugats die Formel IV, wie oben definiert. Der Li-

gand des Konjugats des vierten Aspekts der Erfindung ist vorzugsweise ein Chelatbildner. Bevorzugt weist der Chelatbildner einen Diamindioxim-, N_2S_2 - oder N_3S -Donorsatz auf.

[0078] In einem fünften Aspekt bietet die vorliegende Erfindung einen nichtradioaktiven Kit zur Herstellung der oben beschriebenen radiopharmazeutischen Zusammensetzung, wobei die Bildgebungseinheit ein Radiometall umfasst, das ein Konjugat eines Liganden mit dem Matrix-Metallocproteinase-Inhibitor der Formel (I) umfasst. Handelt es sich beim Radiometall um ^{99m}Tc , umfasst der Kit ferner zweckgemäß ein biokompatibles Reduktionsmittel. Die Ligandenkonjugate und bevorzugte Aspekte derselben sind vorstehend in der vierten Ausführungsform beschrieben.

[0079] Derartige Kits sind so entwickelt, dass sie sterile radiopharmazeutische Produkte ergeben, die geeignet sind zur Verabreichung an den Menschen, z. B. via direkte Injektion in den Blutkreislauf. Was ^{99m}Tc anbelangt, ist der Kit vorzugsweise lyophilisiert und so gestaltet, dass er mit steriles ^{99m}Tc -Pertechnetat (TcO_4^-) aus einem ^{99m}Tc -Radioisotopgenerator rekonstituiert wird, so dass daraus eine Lösung hervorgeht, die sich ohne weitere Handhabung für die Verabreichung an den Menschen eignet. Zweckmäßige Kits umfassen einen versiegelten Behälter, der die Wahrung der sterilen Integrität und/oder des Schutzes vor Radioaktivität ermöglicht, und ferner gegebenenfalls ein inertes Kopfraumgas (z. B. Stickstoff oder Argon); gleichzeitig erlaubt der Behälter die Zugabe und Entnahme von Lösungen durch eine Spritze. Ein solcher bevorzugter Behälter besteht in einem mit Septum versiegelten Vial, auf das der gasdichte Verschluss mit einer Übersiegelung (typischerweise aus Aluminium) gecrimpt ist. Solche Behälter besitzen den zusätzlichen Vorteil, dass der Verschluss nach Wunsch einem Unterdruck standhalten kann, z. B. um das Kopfraumgas auszutauschen oder Lösungen zu entgasen. Der Kit umfasst das Liganden- oder Chelatorkonjugat entweder in Form einer freien Base oder eines Säuresalzes, zusammen mit einem biokompatiblen Reduktionsmittel, wie Natriumdithionit, Natriumbisulfit, Ascorbinsäure, Formamidinsulfinsäure, Zinnion, $\text{Fe}(\text{II})$ oder $\text{Cu}(\text{I})$. Beim biokompatiblen Reduktionsmittel handelt es sich vorzugsweise um ein Zinnsalz, etwa Zinnchlorid oder Zinntartrat. Alternativ dazu kann der Kit gegebenenfalls einen Metallkomplex enthalten, der nach Zugabe des Radiometalls eine Transmetallierung durchläuft (d. h. Metallaustausch) und das gewünschte Produkt ergibt.

[0080] Gegebenenfalls umfassen die nichtradioaktiven Kits zusätzliche Komponenten, wie einen Transchelator, ein Radioprotektor, ein antimikrobielles Konservierungsmittel, pH-Regulierungsmittel oder ein Füllmittel. Beim „Transchelator“ handelt es sich um eine Verbindung, die schnell reagiert, um einen schwachen Komplex mit Technetium zu bilden, und dann vom Liganden deplaciert wird. Dies minimiert die Gefahr einer Bildung von reduziertem hydrolysiertem Technetium (RHT) aufgrund schneller Reduktion von Pertechnetat im Wettstreit mit der Technetiumkomplexierung.

[0081] Geeignete Transchelatoren sind Salze einer schwachen organischen Säure, d. h. einer organischen Säure mit einem pKa -Wert im Bereich von 3 bis 7, mit einem biokompatiblen Kation. Zu den geeigneten schwachen organischen Säuren zählen Essigsäure, Zitronensäure, Weinsäure, Gluconsäure, Glucoheptonsäure, Benzoesäure, Phenol- oder Phosphonsäuren. Daher handelt es sich bei den geeigneten Salzen um Acetate, Citrate, Tartrate, Gluconate, Glucoheptonate, Benzoate, Phenolate oder Phosphonate. Bevorzugte Salze sind Tartrate, Gluconate, Glucoheptonate, Benzoate oder Phosphonate, besonders bevorzugt Phosphonate, ganz besonders bevorzugt Diphosphonate. Ein bevorzugter Transchelator ist ein Salz von MDP, also Methylendiphosphonsäure, mit einem biokompatiblen Kation. Unter dem Begriff „biokompatibles Kation“ ist ein positiv geladenes Gegenion zu verstehen, das ein Salz mit einer ionisierten, negativ geladenen anionischen Gruppe bildet, wobei das positiv geladene Gegenion ebenfalls nichttoxisch ist und daher zur Verabreichung an den Körper eines Säugers, insbesondere an den Körper eines Menschen taugt. Zu den Beispielen für geeignete biokompatible Kationen zählen: die Akalimetalle Natrium oder Kalium, die Erdalkalimetalle Calcium und Magnesium und ferner das Ammonium. Bevorzugte biokompatible Kationen sind Natrium und Kalium, besonders bevorzugt Natrium.

[0082] Unter dem Begriff „Radioprotektor“ ist eine Verbindung zu verstehen, welche Degradationsreaktionen, wie Redoxprozesse, inhibiert, indem sie hochreaktive freie Radikale einfängt, z. B. Sauerstoff enthaltende freie Radikale, die aus der Radiolyse von Wasser entstehen. Die Radioprotektoren der vorliegenden Erfindung sind zweckgemäß ausgewählt aus: Ascorbinsäure, para-Aminobenzoësäure (d. h. 4-Aminobenzoësäure), Gentisinsäure (d. h. 2,5-Dihydroxybenzoësäure) und Salzen davon mit einem biokompatiblen Kation, wie oben dargelegt.

[0083] Unter dem Begriff „antimikrobielles Konservierungsmittel“ ist ein Mittel zu verstehen, welches das Wachstum von potentiell schädlichen Mikroorganismen, z. B. Bakterien, Hefen oder Schimmelpilzen, inhibiert. Darüber hinaus kann das antibakterielle Konservierungsmittel in Abhängigkeit von der Dosis einige bakterizide

Eigenschaften besitzen. Die Hauptaufgabe des bzw. der antimikrobiellen Konservierungsmittel(s) der vorliegenden Erfindung besteht darin, das Wachstum beliebiger derartiger Mikroorganismen in der radiopharmazeutischen Zusammensetzung post-Rekonstitution, d. h. im radioaktiven diagnostischen Produkt selbst, zu inhibieren. Allerdings kann das antimikrobielle Konservierungsmittel gegebenenfalls auch eingesetzt werden, um das Wachstum potentiell schädlicher Mikroorganismen in einer oder mehreren Komponenten des nichtradioaktiven Kits der vorliegenden Erfindung vor der Rekonstitution zu inhibieren. Zu den geeigneten antimikrobiellen Konservierungsmitteln zählen: die Parabene, d. h. Methyl-, Ethyl-, Propyl- oder Butylparaben, oder Gemische aus denselben; Benzylalkohol; Phenol; Kresol; Cetrimid, und Thiomersal. Bevorzugte antimikrobielle Konservierungsmittel sind die Parabene.

[0084] Der Begriff „pH-Regulierungsmittel“ bezeichnet eine Verbindung oder ein Gemisch aus Verbindungen, nützlich zur Gewährleistung, dass der pH-Wert des rekonstituierten Kits innerhalb annehmbarer Grenzen (anähernd pH-Wert 4,0 bis 10,5) für die Verabreichung an Mensch oder Säugetier liegt. Geeignete pH-Regulierungsmittel umfassen pharmazeutisch annehmbare Puffer, wie Tricin, Phosphat oder TRIS [d. h. tris(Hydroxymethyl)aminomethan] und pharmazeutisch annehmbare Basen, wie Natriumcarbonat, Natriumbicarbonat oder Gemische aus denselben. Wenn das Konjugat in Form eines Säuresalzes benutzt wird, kann das pH-Regulierungsmittel gegebenenfalls in einem separaten Vial oder Behältnis zur Verfügung gestellt werden, so dass der Benutzer des Kits die Möglichkeit hat, den pH-Wert als Teil eines Mehrschrittverfahrens zu regulieren.

[0085] Unter dem Begriff „Filler“ ist ein pharmazeutisch annehmbares Füllmittel zu verstehen, das die Handhabung des Materials während der Herstellung und Lyophilisierung erleichtern kann. Zu den geeigneten Füllmitteln gehören anorganische Salze, wie Natriumchlorid, und wasserlösliche Zucker oder Zuckeralkohole, wie Saccharose, Maltose, Mannit oder Trehalose.

[0086] In einem sechsten Aspekt bietet die vorliegende Erfindung Kits für die Herstellung radiopharmazeutischer Präparate, bei denen die Bildgebungseinheit ein Nichtmetall-Radioisotop, d. h. ein Gamma-emittierendes radioaktives Halogen oder ein Positronen emittierendes radioaktives Nichtmetall, umfasst. Derartige Kits umfassen, wie nachstehend erläutert, einen „Vorläufer“, vorzugsweise in steriler nicht pyrogener Form, so dass eine Reaktion mit einer sterilen Quelle des Radioisotops das gewünschte Radiopharmakon mit der minimalen Anzahl an Handhabungen ergibt. Solche Erwägungen sind von besonderer Wichtigkeit in Bezug auf Radiopharmaka, bei denen das Radioisotop eine verhältnismäßig kurze Halbwertszeit besitzt, und in Bezug auf die Erleichterung der Handhabung, die eine reduzierte Strahlendosis für den Radiopharmazeut zur Folge hat. Daraus ist das Reaktionsmedium für die Rekonstitution solcher Kits vorzugsweise wässrig und liegt in einer Form vor, die zur Verabreichung an Säuger taugt. Der Vorläufer wird vorzugsweise in einem versiegelten Behältnis zur Verfügung gestellt, wie vorstehend hinsichtlich der vierten Ausführungsform dargelegt.

[0087] Zweckgemäß umfasst der „Vorläufer“ ein nichtradioaktives Derivat des Materials des Matrix-Metalloproteinase-Inhibitors in steriler, apyrogener Form, so entwickelt, dass sich eine chemische Umsetzung mit einer passenden chemischen Form des gewünschten Nichtmetall-Radioisotops in der minimalen Anzahl von Schritten (idealerweise einem einzigen Schritt) und ohne Notwendigkeit für eine erhebliche Reinigung (idealerweise ohne weitere Reinigung) durchführen lässt, damit das gewünschte radioaktive Produkt entsteht. Derartige Vorläufer lassen sich mit guter chemischer Reinheit und auf praktische Weise erhalten. Geeignete Vorläufer sind aus Beispielen abgeleitet, die in Bolton, J. Lab. Corp. Radiopharm., 45, 485–528 (2002) beschrieben sind.

[0088] Bevorzugte Vorläufer dieser Ausführungsform umfassen ein Derivat, das entweder eine elektrophile oder nukleophile Halogenierung durchläuft; das sich leicht mit einem Alkylierungsmittel alkylieren lässt, das ausgewählt ist aus einem Alkyl- oder Fluoroalkylhalogenid, -Tosylat, -Triflat (d. h. Trifluormethansulfonat) oder -Mesylat; oder Alkylat-Thioleinheiten zur Bildung von Thioetherverknüpfungen. Zu den Beispielen für die erste Kategorie zählen:

- (a) organometallische Derivate, wie z. B. Trialkylstannan (z. B. Trimethylstannyl oder Tributylstannyl) oder ein Trialkylsilan (z. B. Trimethylsilyl);
- (b) ein nichtradioaktives Alkyljodid oder Alkylbromid für Halogenaustausch und Alkyltosylat, -mesylat oder -triflat für nukleophile Halogenierung;
- (c) aromatische Ringe, die in Richtung elektrophiler Halogenierung aktiviert sind (z. B. Phenole) und aromatische Ringe, die in Richtung nukleophiler Halogenierung aktiviert sind (z. B. Aryliodonium, Aryldiazonium, Nitroaryl).

[0089] Bevorzugte Derivate, welche leichte Alkylierung durchlaufen, sind Alkohole, Phenole oder Aminogruppen, insbesondere Phenole und sterisch ungehinderte primäre oder sekundäre Amine.

[0090] Bevorzugte Derivate, welche Thiol enthaltende Radioisotopreaktanten alkylieren, sind N-Haloacetyl-Gruppen, insbesondere N-Chloracetyl- und N-Bromacetyl-Derivate.

[0091] Die Vorläufer können unter aseptischen Herstellungsbedingungen benutzt werden, damit sich das gewünschte sterile, nicht pyogene Material ergibt. Außerdem besteht die Möglichkeit, die Vorläufer unter nicht sterilen Bedingungen zu verwenden, gefolgt von der abschließenden Sterilisation z. B. mittels Gammastrahlen, Autoklavierung, Trockenhitze oder chemischer Behandlung (z. B. mit Ethylenoxid). Vorzugsweise erfolgt der Gebrauch der Vorläufer in steriler, nicht pyogener Form.

[0092] Wenn X^3 in Formel I für H steht, können geeignete Vorläufer für MMPi's der Formel I ein Derivat umfassen, bei dem X^3 für eine Schutzgruppe (P^G) für die Hydroxamsäureeinheit steht. Unter dem Begriff „Schutzgruppe“ ist eine Gruppe zu verstehen, die einerseits unerwünschte chemische Reaktionen inhibiert oder unterdrückt, aber andererseits so entworfen ist, dass ihre Reaktivität ausreicht, dass sie sich von der betreffenden funktionellen Gruppe unter Bedingungen spalten lässt, die sanft genug sind, dass sie den Rest des Moleküls nicht modifizieren. Nach der Entschützung wird das gewünschte Produkt erhalten. Schutzgruppen sind Fachleuten auf diesem Gebiet wohlbekannt, und ihre Auswahl erfolgt zweckgemäß für Amingruppen aus: Boc (wobei Boc tert-Butyloxycarbonyl ist), Fmoc (wobei Fmoc Fluorenylmethoxycarbonyl ist), Trifluoracetyl, Allyloxy-carbonyl, Dde [d. h. 1-(4,4-Dimethyl-2,6-dioxocyclohexyliden)ethyl] oder Npys (d. h. 3-Nitro-2-pyridinsulfenyl); und ferner für Carboxylgruppen aus: Methylester, tert-Butylester oder Benzylester. Jene Schutzgruppen, die für Hydroxylgruppen geeignet sind, umfassen: Benzyl, Acetyl, Benzoyl, Trityl (Trt) oder Trialkylsilyl, z. B. Tetra-butylidimethylsilyl. Zu den für Thiolgruppen geeigneten Schutzgruppen zählen: Trityl und 4-Methoxybenzyl. Bevorzugte Schutzgruppen für die Hydroxylgruppe einer Hydroxamsäureeinheit sind: Benzyl oder Trialkylsilyl. Der Einsatz weiterer Schutzgruppen ist beschrieben in: Protective Groups in Organic Synthesis, Theodors W. Greene und Peter G. M. Wuts (John Wiley & Sons, 1991).

[0093] Bevorzugte zweckmäßige chemische Formen der gewünschten nichtmetallischen Radioisotope umfassen:

- (a) Halogenidionen (z. B. ^{123}I -Iodid oder ^{18}F -Fluorid), insbesondere in wässrigen Medien, für Substitutionsreaktionen;
- (b) ^{11}C -Methyliodid- oder ^{18}F -Fluoralkylen-Verbindungen mit einer guten Austrittsgruppe, z. B. Bromid, Mesylat oder Tosylat;
- (c) $\text{HS}(\text{CH}_2)_3^{18}\text{F}$ für S-Alkylierungsreaktionen mit alkylierenden Vorläufern, z. B. N-Chloracetyl- oder N-Bromacetyl-Derivaten.

[0094] Beispiele für derartige geeignete „Vorläufer“ und Verfahren für deren Herstellung sind (oben) in der ersten Ausführungsform beschrieben.

[0095] Vorzugsweise wird der „Vorläufer“ des Kits so bereitgestellt, dass er an eine feste Trägermatrix kovalent angebunden ist. Auf diese Weise bildet sich das gewünschte radiopharmazeutische Produkt in Lösung, wohingegen Ausgangsmaterialien und Unreinheiten an die feste Phase gebunden bleiben. Vorläufer für elektrophile Festphasen-Fluorierung mit ^{18}F -Fluorid sind in WO 03/002489 beschrieben, wohingegen Vorläufer für nukleophile Festphasen-Fluorierung mit ^{18}F -Fluorid in WO 03/002157 erläutert sind. Deshalb kann der Kit eine Kartusche enthalten, die sich in eine entsprechend angepasste automatisierte Synthesevorrichtung stecken lässt. Abgesehen vom an den festen Träger gebundenen Vorläufer kann die Kartusche eine Säule zum Entfernen nicht gewollter Fluoridionen und ein angeschlossenes, passendes Gefäß enthalten, um die Möglichkeit zu schaffen, dass das Reaktionsgemisch verdampft und das Produkt nach Wunsch formuliert wird. Die Reagenzien und Lösungsmittel sowie weitere Verbrauchsmaterialien, die für die Synthese erforderlich sind, können ebenso enthalten sein wie eine Compact Disc, welche Software enthält, durch die sich die Synthesevorrichtung so betreiben lässt, dass sie die Erfordernisse des Kunden bezüglich radioaktiver Konzentration, Volumen, Lieferzeit, etc. erfüllt. Zweckgemäß handelt es sich bei allen Komponenten des Kits um sterile und qualitätsgeprüfte Einwegkomponenten, um die Möglichkeit einer Kontaminierung zwischen den Durchläufen zu minimieren.

[0096] In einem achten Aspekt offenbart die vorliegende Erfindung die Verwendung des Matrix-Metalloproteinase-Inhibitor-Bildgebungsmittels, das oben im Hinblick auf die diagnostische Bildgebung von Atherosklerose, insbesondere von instabilen vulnerablen Plaques erläutert ist.

[0097] In einem weiteren Aspekt offenbart die vorliegende Erfindung die Verwendung des Matrix-Metalloproteinase-Inhibitor-Bildgebungsmittels, das oben hinsichtlich der diagnostischen Bildgebung von anderen entzündlichen Erkrankungen, Krebs oder degenerativen Erkrankungen beschrieben ist.

[0098] In einem weiteren Aspekt offenbart die vorliegende Erfindung die Verwendung des Matrix-Metalloproteinase-Inhibitor-Bildgebungsmittels, das oben erläutert ist für die intravaskuläre Detektion von Atherosklerose, insbesondere von instabilen vulnerablen Plaques, und zwar unter Einsatz von Annäherungsdetektion. Eine derartige Annäherungsdetektion lässt sich erreichen durch eine intravaskuläre Vorrichtung, etwa einen Katheter, oder intraoperativ durch mit der Hand gehaltene Detektoren (z. B. Gamma-Detektoren). Eine solche intravaskuläre Detektion ist besonders nutzbringend, wenn es sich bei der Bildgebungseinheit um eine für die optische Bildgebung *in vivo* geeignete Reportergruppe, oder um einen β -Emitter handelt, weil derartige Einheiten außerhalb des Säugerkörpers nicht rasch nachweisbar sind, aber zur Annäherungsdetektion taugen.

[0099] Die Erfindung ist durch nicht einschränkende Beispiele veranschaulicht, die nachstehend im Einzelnen erläutert sind. Beispiel 1 beschreibt die Synthese der Verbindung 1,1,1-Tris(2-aminoethyl)methan. In Beispiel 2 ist eine alternative Synthese von 1,1,1-Tris(2-aminoethyl)methan aufgeführt, bei der die Verwendung potentiell gefährlicher Azidzwischenverbindungen vermieden wird. Beispiel 3 schildert die Synthese eines Chlortrosoalkan-Vorläufers. Beispiel 4 stellt die Synthese eines bevorzugten Amin-substituierten bifunktionellen Di-amindioxims der vorliegenden Erfindung dar (Chelator 1).

[0100] In Beispiel 5 ist eine Synthese eines MMPi's der Erfindung, nämlich jene von Verbindung 27 erklärt. Beispiel 6 zeigt die Synthese eines Phenol-substituierten MMPi-Vorläufers, der sich zur Radiohalogenierung eignet (Verbindung 23). Beispiel 7 beschreibt die Synthese eines Jodanilin-Vorläufers, der zur Radiohalogenierung geeignet ist (Verbindung 26). Beispiel 9 veranschaulicht die Synthese eines Chelatorkonjugats eines MMPi's der Erfindung. Beispiel 10 stellt die Synthese eines MMPi's dar, der mit einer PEG-Linkergruppe funktionalisiert ist. Beispiel 11 schildert die Synthese eines Chelatorkonjugats mit einer PEG-Linkergruppe. Beispiel 12 erläutert die Synthese eines Chloracetyl-Vorläufers, der sich zur PET-Radiomarkierung eignet. In Beispiel 13 ist die Synthese von Thioether-verknüpften Fluoralkyl-MMPi-Derivaten aufgeführt. Beispiel 14 zeigt einen Bereich von Aminosäure- und/oder PEG-verknüpften MMPi's, um die Modifikation der biologischen Eigenschaften zu ermöglichen.

[0101] Die Beispiele 15 und 16 veranschaulichen die Synthesen geeigneter ^{18}F -markierter Verbindungen für die ^{18}F -MMPi-Radiomarkierung. Beispiel 17 beschreibt die Synthese der Verbindungen 45 bis 48. Beispiel 18 schildert *in vitro* Assays, welche zeigen, dass die Derivate der MMPi's der vorliegenden Erfindung biologische Aktivität als MMP-Inhibitoren beibehalten. Beispiel 19 erläutert ein allgemeines $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Radiomarkierungsverfahren für Chelatorkonjugate. Beispiel 20 zeigt ein Radiojodierungsverfahren für geeignete Vorläufer der Erfindung. Beispiel 21 stellt eine Herstellung spezifischer ^{18}F -Derivate der Erfindung dar. Beispiel 22 liefert Belege, dass die radiojodierten Derivate der Erfindung die adäquate Plasmastabilität vorweisen, um als Bildgebungsmittel *in vivo* zu fungieren. Beispiel 23 beschreibt die Aufnahme radiojodierter Bildgebungsmittel der Erfindung in Tumormodellen *in vivo*. Dies zeigt, dass sich die Bioverteilung mithilfe der Linkergruppen der Erfindung modifizieren lässt. Verbindung 20A (d. h. Verbindung 24A mit einem PEG3-Spacer) verweilte ähnlich lang im Blut, zeigte aber einen Anstieg der renalen Ausscheidung um 10% und eine entsprechende 10-prozentige Abnahme bei HBS gegenüber Verbindung 24. Deswegen resultierte die Zugabe eines Biomodifikators in einer Veränderung der Pharmakokinetik. Die Aufnahme in den Tumor fiel geringfügig niedriger aus als jene, die bei Verbindung 24 beobachtet wurde, jedoch erwies sich die Retention als etwas höher. Verbindung 32A wies eine hohe anfängliche Blutretention auf, bei Clearance im Verlauf der Zeit. Eine gute Aufnahme und Retention im Tumor wurde bis zu einer Stunde post Injektion beobachtet. Hohe renale Ausscheidung und geringe GI-Ausscheidung wurden erkannt. Diese Pharmakokinetiken sind stärker wünschenswert und unterscheiden sich signifikant von jenen der Verbindung ohne Biomodifikator (also Verbindung 24), was die günstigen Wirkungen der Biomodifikation ohne Verlust des Inhibitionsvermögens bei den genannten Verbindungen demonstriert.

[0102] Beispiel 24 erklärt die Aufnahme ^{18}F -markierter Bildgebungsmittel der Erfindung in Tumormodellen *in vivo*. Beispiel 25 beschreibt die Aufnahme von Bildgebungsmitteln der Erfindung in einem *in vivo* Modell für Atherosklerose. Beispiel 26 liefert den autoradiographischen Beleg dafür, dass die Agenzien der Erfindung an Stellen der Atherosklerose *in vivo* aufgenommen werden. Beispiel 27 erläutert die Tumorbildgebung in einem Tumormodell.

[0103] [Fig. 1](#) veranschaulicht die chemischen Strukturen mehrerer Verbindungen der Erfindung, einschließlich eines MMPi's, von dem sie abgeleitet sind (Verbindung 1).

[0104] [Fig. 2](#) zeigt die chemischen Strukturen dreier MMPi's der Erfindung. [Fig. 3](#) stellt die aus Beispiel 27 erhaltenen Bilder dar.

Beispiel 1: Synthese von 1,1,1-Tris(2-aminoethyl)methan

(Schritt a): 3-(Methoxycarbonylmethylen)glutarsäuredimethylester

[0105] Carbomethoxymethylentriphenylphosphoran (167 g, 0,5 mol) in Toluol (600 ml) wurde mit Dimethyl-3-oxoglutarat (87 g, 0,5 mol) behandelt, und die Reaktion wurde auf einem Ölbad bei 120°C unter einer Stickstoffatmosphäre 36 Stunden lang auf 100°C erhitzt. Daraufhin wurde die Reaktion in vacuo konzentriert, und der ölige Rest wurde mit 40/60 Petrolether/Diethylether 1:1, 600 ml, zu Pulver gemacht. Triphenylphosphinoxid präzipitierte, und die überstehende Flüssigkeit wurde dekantiert/abgefiltert. Nach Evaporation in vacuo wurde der Rest im Kugelrohr unter Hochvakuum Bpt destilliert (Ofentemperatur 180–200°C bei 0,2 Torr), so dass sich 3-(Methoxycarbonylmethylen)glutarsäuredimethylester (89,08 g, 53%) ergab.

NMR $^1\text{H}(\text{CDCl}_3)$: δ 331 (2H, s, CH_2), 3,7 (9H, s, $3 \times \text{OCH}_3$), 3,87 (2H, s, CH_2), 5,79 (1H, s, =CH) ppm.

NMR $^{13}\text{C}(\text{CDCl}_3)$, δ 36,56, CH_3 , 48,7, $2 \times \text{CH}_3$, 52,09 und 52,5 ($2 \times \text{CH}_2$); 122,3 und 146,16 C=CH; 165,9, 170,0 und 170,5 $3 \times \text{COO}$ ppm.

(Schritt b): Hydrierung von 3-(Methoxycarbonylmethylen)glutarsäuredimethylester

[0106] 3-(Methoxycarbonylmethylen)glutarsäuredimethylester (89 g, 267 mmol) in Methanol (200 ml) wurde mit (10% Palladium auf Kohle:50% Wasser) (9 g) unter einer Wasserstoffgasatmosphäre (3,5 bar) 30 Stunden lang geschüttelt. Die Lösung wurde durch Kieselguhr filtriert und in vacuo konzentriert, so dass sich 3-(Methoxycarbonylmethylen)glutarsäuredimethylester als Öl ergab, und zwar bei einer Ausbeute von 84,9 g, 94%.

NMR $^1\text{H}(\text{CDCl}_3)$, δ 2,48 (6H, d, $J = 8$ Hz, $3 \times \text{CH}_2$), 2,78 (1H, Hextet, $J = \delta\text{Hz}$ CH,) 3,7 (9H, s, $3 \times \text{CH}_3$).

NMR $^{13}\text{C}(\text{CDCl}_3)$, δ 28,6, CH; 37,50, $3 \times \text{CH}_3$; 51,6, $3 \times \text{CH}_2$; 172,28, $3 \times \text{COO}$.

(Schritt c): Reduktion und Veresterung von Trimethylester zu Triacetat

[0107] Unter einer Stickstoffatmosphäre in einem 2L-Dreihalsrundkolben wurde Lithiumaluminiumhydrid (20 g, 588 mmol) in Tetrahydrofuran (400 ml) vorsichtig mit Tris(methyloxycarbonylmethyl)methan (40 g, 212 mmol) in Tetrahydrofuran (200 ml) über eine Stunde behandelt. Eine stark exotherme Reaktion trat auf und bewirkte ein starkes Refluxieren des Lösungsmittels. Auf einem Ölbad wurde die Reaktion bei 90°C und Reflux drei Tage lang erhitzt. Durch die vorsichtige tropfenweise Zugabe von Essigsäure (100 ml) wurde die Reaktion gequencht, bis die Wasserstoffentwicklung endete. Behutsam wurde das gerührte Reaktionsgemisch mit Essigsäureanhydrid-Lösung (500 ml) behandelt, und zwar mit einer solchen Rate, dass ein sanfter Reflux hervorgerufen wurde. Der Kolben wurde für eine Destillation hergerichtet, sein Inhalt gerührt, woraufhin ein Erhitzen bei 90°C erfolgte (Ölbadtemperatur), um das Tetrahydrofuran herauszudestillieren. Eine weitere Portion Essigsäureanhydrid (300 ml) wurde hinzugegeben, die Reaktion zur Refluxkonfiguration zurückgebracht, gerührt und in einem Ölbad bei 140°C fünf Stunden lang erhitzt. Dann ließ man die Reaktion abkühlen, woraufhin sie filtriert wurde. Das Aluminiumoxid-Präzipitat wurde mit Ethylacetat gewaschen, und die kombinierten Filtrate wurden auf einem Rotationsverdampfer bei einer Wasserbadtemperatur von 50°C in vacuo (5 mm Hg) konzentriert, so dass sich ein Öl ergab. Das Öl wurde in Ethylacetat (500 ml) aufgenommen und mit gesättigter wässriger Kaliumkarbonatlösung gewaschen. Die Ethylacetatlösung wurde separiert, über Natriumsulfat getrocknet und in vacuo konzentriert, um ein Öl zu erhalten. Unter Hochvakuum wurde das Öl Kugelrohrdestilliert, so dass sich Tris(2-Acetoxyethyl)methan (45,3 g, 96%) in Form von Öl ergab. Bp. 220°C bei 0,1 mm Hg.

NMR $^1\text{H}(\text{CDCl}_3)$, δ 1,66 (7H, m, $3 \times \text{CH}_2$, CH), 208 (1H, s, $3 \times \text{CH}_3$); 4,1 (6H, t, $3 \times \text{CH}_2\text{O}$).

NMR $^{13}\text{C}(\text{CDCl}_3)$, δ 20,9, CH_3 ; 29,34; CH; 32,17, CH_2 ; 62,15; CH_2O ; 171, CO.

(Schritt d): Entfernung von Acetatgruppen aus dem Triacetat

[0108] Tris(2-acetoxyethyl)methan (45,3 g, 165 mM) in Methanol (200 ml) und 880 Ammoniak (100 ml) wurden auf einem Ölbad bei 80°C zwei Tage lang erhitzt. Die Reaktion wurde mit einer weiteren Portion 880 Ammoniak (50 ml) behandelt und bei 80°C in einem Ölbad 24 Stunden lang erhitzt. Eine weitere Portion 880 Ammoniak (50 ml) wurde hinzugefügt, und abermals wurde die Reaktion bei 80°C 24 Stunden lang erhitzt. Daraufhin wurde die Reaktion in vacuo konzentriert, um alle Lösungsmittel zu entfernen, so dass sich ein Öl ergab. Dieses wurde in 880 Ammoniak (150 ml) aufgenommen und bei 80°C 24 Stunden lang erhitzt. Dann wurde die Reaktion in vacuo konzentriert, um alle Lösungsmittel zu entfernen, so dass ein Öl entstand. Eine Kugelrohrdestillation ergab Acetamid bp 170–180 0,2 mm. Die das Acetamid enthaltenden Kolben wurden sauber gewaschen, und die Destillation wurde fortgesetzt. Tris(2-hydroxyethyl)methan (22,53 g, 92%) wurde bei bp 220°C 0,2 mm destilliert.

NMR $^1\text{H}(\text{CDCl}_3)$, δ 1,45 (6H, q, $3 \times \text{CH}_2$), 2,2 (1H, Quintet, CH); 3,7 (6H, t, $3 \times \text{CH}_2\text{OH}$); 5,5 (3H, brs, $3 \times \text{OH}$).

NMR $^{13}\text{C}(\text{CDCl}_3)$, δ 22,13, CH; 33,95, $3 \times \text{CH}_2$; 57,8, $3 \times \text{CH}_2\text{OH}$.

(Schritt e): Wandlung des Triols zu Tris(methansulfonat)

[0109] Einer gerührten eisgekühlten Lösung aus Tris(2-hydroxyethyl)methan (10 g, 0,0676 mol) in Dichlormethan (50 ml) wurde langsam eine Lösung aus Methansulfonylchlorid (40 g, 0,349 mol) in Dichlormethan (50 ml) unter Stickstoff mit einer solchen Rate tropfenweise hinzugegeben, dass die Temperatur nicht über 15°C stieg. Daraufhin wurde Pyridin (21,4 g, 0,27 mol, 4 eq), gelöst in Dichlormethan (50 ml), tropfenweise mit einer solchen Rate hinzugefügt, dass die Temperatur 15°C nicht überschritt, exotherme Reaktion. Die Reaktion wurde bei Raumtemperatur 24 Stunden lang gerührt und dann mit 5 N Salzsäurelösung (80 ml) behandelt, woraufhin die Schichten getrennt wurden. Die wässrige Schicht wurde mit weiterem Dichlormethan (50 ml) extrahiert, und die organischen Extrakte wurden kombiniert, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und in *vacuo* konzentriert, so dass sich Tris[2-(methylsulfonyloxy)ethyl]methan ergab, das mit einem Überschuss Methansulfonylchlorid kontaminiert war. Die theoretische Ausbeute belief sich auf 25,8 g.
 NMR $^1\text{H}(\text{CDCl}_3)$, δ 4,3 (6H, t, $2 \times \text{CH}_2$), 3,0 (9H, s, $3 \times \text{CH}_3$), 2 (1H, Hextet, CH), 1,85 (6H, q, $3 \times \text{CH}_2$).

(Schritt f): Herstellung von 1,1,1-Tris(2-azidoethyl)methan

[0110] Eine gerührte Lösung aus Tris[2-(methylsulfonyloxy)ethyl]methan [aus Schritt 1(e), kontaminiert mit überschüssigem Methansulfonylchlorid] (25,8 g, 67 mmol, theoretisch), in trockenem DMF (250 ml) unter Stickstoff wurde mit Natriumazid (30,7 g, 0,47 mol) portionsweise über 15 Minuten behandelt. Eine exotherme Reaktion wurde beobachtet, und die Reaktion wurde auf einem Eisbad gekühlt. Nach 30 Minuten wurde das Reaktionsgemisch auf einem Ölbad bei 50°C 24 Stunden lang erhitzt. Die Reaktion nahm eine braune Farbe an. Man ließ die Reaktion abkühlen, woraufhin sie mit verdünnter Kaliumcarbonatlösung (200 ml) behandelt und dreimal mit 40/60 Petrolether/Diethylether 10:1 (3×150 ml) extrahiert wurde. Die organischen Extrakte wurden mit Wasser (2×150 ml) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Ethanol (200 ml) wurde der Petrol/Ether-Lösung hinzugegeben, um das Triazid in der Lösung zu halten, und das Volumen wurde in *vacuo* auf nicht weniger als 200 ml reduziert. Ethanol (200 ml) wurde hinzugefügt, und es erfolgte eine erneute Konzentration in *vacuo*, um die letzten Spuren von Petrol zu entfernen, worauf nicht weniger als 200 ml ethanolischer Lösung zurückblieben. Die Ethanolösung von Triazid wurde direkt in Schritt 1(g) eingesetzt. VORSICHT: DAS LÖSUNGSMITTEL NICHT VOLLSTÄNDIG ENTFERNEN, DA DAS AZID POTENTIELL EXPLOSIV IST UND JEDERZEIT IN VERDÜNNUNGSLÖSUNG GEHALTEN WERDEN SOLLTE.

[0111] Weniger als 0,2 ml der Lösung wurden in Vakuum verdampft, um das Ethanol zu entfernen, und mit dieser kleinen Probe wurde ein NMR-Durchlauf vorgenommen:

NMR $^1\text{H}(\text{CDCl}_3)$, δ 3,35 (6H, t, $3 \times \text{CH}_2$), 1,8 (1H, Septet, CH,), 1,6 (6H, q, $3 \times \text{CH}_2$).

(Schritt g): Herstellung von 1,1,1-Tris(2-aminoethyl)methan

[0112] Tris(2-azidoethyl)methan (15,06 g, 0,0676 mol) (ausgehend von 100% Ausbeute gegenüber der vorherigen Reaktion) in Ethanol (200 ml) wurde mit 10% Palladium auf Kohle (2 g, 50% Wasser) behandelt und 12 Stunden lang hydriert. Alle zwei Stunden wurde das Reaktionsgefäß geleert, um aus der Reaktion entstandenen Stickstoff zu entfernen, und mit Wasserstoff wieder gefüllt. Für die NMR-Analyse wurde eine Probe entnommen, um die vollständige Wandlung des Triazids zu Triamin zu bestätigen. Vorsicht: Nicht reduziertes Azid kann bei der Destillation explodieren. Die Reaktion wurde durch einen Celite-Pad filtriert, um den Katalysator zu entfernen, und in *vacuo* konzentriert, so dass sich Tris(2-aminoethyl)methan als Öl ergab. Dieses wurde durch Kugelrohrdestillation weiter gereinigt bp. 180–200°C bei 0,4 mm/Hg, so dass ein farbloses Öl entstand (8,1 g, 82,7% Gesamtausbeute ausgehend vom Triol).

NMR $^1\text{H}(\text{CDCl}_3)$, 272 (6H, t, $3 \times \text{CH}_2\text{N}$), 1,41 (H, Septet, CH), 139 (6H, q, $3 \times \text{CH}_2$).

NMR $^{13}\text{C}(\text{CDCl}_3)$, δ 39,8 (CH_2NH_2), 38,2 (CH_2), 31,0 (CH).

Beispiel 2: Alternative Herstellung von 1,1,1-Tris(2-aminoethyl)methan

(Schritt a): Amidierung von Trimethylester mit p-Methoxy-benzylamin

[0113] Tris(methyloxycarbonylmethyl)methan [2 g, 8,4 mmol; hergestellt wie oben in Schritt 1(b)] wurde in p-Methoxy-benzylamin (25 g, 178,6 mmol) gelöst. Das Gerät wurde für die Destillation hergerichtet und unter Stickstoffstrom 24 Stunden lang auf 120°C erhitzt. Der Fortschritt der Reaktion wurde anhand der Menge des gesammelten Methanols überwacht. Das Reaktionsgemisch wurde auf Umgebungstemperatur abgekühlt, und 30 ml Ethylacetat wurden hinzugefügt, woraufhin das präzipitierte Triimidprodukt 30 min lang gerührt wurde. Durch Filtration wurde das Triimid isoliert, und der Filterkuchen wurde mehrere Male mit ausreichenden Mengen Ethylacetat gewaschen, um überschüssiges p-Methoxy-benzylamin zu entfernen. Nach dem Trocknen

wurden 4,6 g, 100%, eines weißen Pulvers erhalten. Ohne weitere Reinigung oder Charakterisierung wurde das in hohem Maße unlösliche Produkt direkt im nächsten Schritt verwendet.

(Schritt b): Herstellung von 1,1,1-Tris[2-(p-Methoxybenzylamino)ethyl]methan

[0114] In einen 1000 ml-Dreihalsrundkolben, gekühlt in einem Eisswasserbad, wurde vorsichtig das Triamid aus Schritt 2(a) (10 g, 17,89 mmol) zu 250 ml von 1 M Boranlösung (3,5 g, 244,3 mmol) gegeben. Nach Beendigung der Zugabe wurde das Eisswasserbad entfernt, und das Reaktionsgemisch langsam auf 60°C erhitzt. Bei 60°C wurde das Reaktionsgemisch 20 Stunden lang gerührt. Eine Probe des Reaktionsgemischs (1 ml) wurde entnommen, mit 0,5 ml 5 N HCl vermischt und dreißig Minuten lang ruhen gelassen. Der Probe wurden 0,5 ml von 50 NaOH hinzugegeben, gefolgt von 2 ml Wasser, und dann wurde die Lösung gerührt, bis sich das gesamte weiße Präzipitat gelöst hatte. Die Lösung wurde mit Ether (5 ml) extrahiert und verdampft. Der Rest wurde in Acetonitril mit einer Konzentration von 1 mg/ml gelöst und durch MS analysiert. Falls Mono- und Di-amid (M + H/z = 520 und 534) im MS-Spektrum erkennbar sind, ist die Reaktion nicht abgeschlossen. Um die Reaktion zu beenden, werden im Anschluss an das vorherige Probeverfahren weitere 100 ml von 1 M Boran in THF-Lösung hinzugegeben, woraufhin das Reaktionsgemisch bei 60°C sechs weitere Stunden lang gerührt und eine neue Probe entnommen wird. Ferner wird die Zugabe von 1 M Boran in THF-Lösung nach Bedarf solange fortgesetzt, bis die Wandlung zu Triamin erfolgt ist.

[0115] Das Reaktionsgemisch wird auf Umgebungstemperatur abgekühlt, und 5 N HCl werden langsam hinzugegeben [VORSICHT: Es tritt eine starke Schaumbildung auf!]. HCl wurde hinzugefügt, bis keine weitere Gasentwicklung beobachtet wurde. Das Gemisch wurde 30 min lang gerührt und dann verdampft. Der Kuchen wurde in wässriger NaOH-Lösung (20–40%; 1:2 w/v) suspendiert und 30 Minuten lang gerührt. Dann wurde das Gemisch mit Wasser (3 Volumina) verdünnt, woraufhin das Gemisch mit Diethylether (2 × 150 ml) extrahiert wurde. [VORSICHT: Keine halogenierten Lösungsmittel verwenden!] Die kombinierten organischen Phasen wurden mit Wasser (1 × 200 ml) und Sole (150 ml) gewaschen und dann über Magnesiumsulfat getrocknet. Die Ausbeute nach Verdampfung belief sich auf 7,6 g, 84% in Form von Öl.

NMR ^1H (CDCl₃), δ: 1,45, (6H, m, 3 × CH₂; 1,54, (1H, Septet, CH); 2,60 (6H, t, 3 × CH₂N); 3,68 (6H, s, ArCH₂); 3,78 (9H, s, 3 × CH₃O); 6,94 (6H, d, 6 × Ar). 7,20 (6H, d, 6 × Ar).

NMR ^{13}C (CDCl₃), δ: 32, 17, CH; 34,44, CH₂; 47,00, CH₂; 53,56, ArCH₂; 55,25, CH₃O; 113,78, Ar; 129,29, Ar; 132,61; Ar; 158,60, Ar;

(Schritt c): Herstellung von 1,1,1-Tris(2-aminoethyl)methan

[0116] 1,1,1-Tris[2-(p-methoxybenzylamino)ethyl]methan (20,0 g, 0,036 mol) wurde in Methanol (100 ml) gelöst und Pd(OH)₂ (5,0 g) wurde hinzugegeben. Das Gemisch wurde hydriert (3 bar, 100°C, in einem Autoklav) und fünf Stunden lang gerührt. Jeweils nach zehn und nach fünfzehn Stunden wurde Pd(OH)₂ in zwei weiteren Portionen (2 × 5 g) hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde filtriert und das Filtrat mit Methanol gewaschen. Die kombinierte organische Phase wurde verdampft, und der Rest wurde unter Vakuum destilliert (1 × 10², 110°C), so dass sich 2,60 g (50%) 1,1,1-Tris(2-aminoethyl)methan ergaben, identisch mit dem zuvor beschriebenen Beispiel 1.

Beispiel 3: Herstellung von 3-Chloro-3-methyl-2-nitrosobutan

[0117] Ein Gemisch aus 2-Methylbut-2-en (147 ml, 1,4 mol) und Isoamylnitrit (156 ml, 1,16 mol) wurde in einem Bad aus Trockeneis und Methanol auf -30°C heruntergekühlt, mit einem Overhead-Luftrührer kräftig gerührt und tropfenweise mit konzentrierter Salzsäure (140 ml, 1,68 mol) behandelt, und zwar mit solch einer Rate, dass die Temperatur unter -20°C gehalten wurde. Dies nimmt etwa eine Stunde in Anspruch, da eine signifikante exotherme Reaktion abläuft, und es ist Sorgfalt anzuwenden, um ein Überhitzen zu vermeiden. Ethanol (100 ml) wurde hinzugegeben, um die Viskosität der Aufschämmung zu reduzieren, die sich am Ende der Zugabe gebildet hatte, und die Reaktion wurde bei -20 bis -10°C weitere zwei Stunden lang gerührt, um die Reaktion abzuschließen. Das Präzipitat wurde durch Filtration unter Vakuum gesammelt und mit 4 × 30 ml kaltem (-20°C) Ethanol und 100 ml eiskaltem Wasser gewaschen und dann in vacuo getrocknet, so dass sich 3-Chloro-3-methyl-2-nitrosobutan in Form eines weißen Feststoffs ergab. Das Ethanolfiltrat und die Waschflüssigkeiten wurden kombiniert, mit Wasser (200 ml) verdünnt, gekühlt und eine Stunde lang bei -10°C ruhen gelassen, als eine weitere Menge von 3-Chloro-3-methyl-2-nitrosobutan auskristallisierte. Durch Filtration wurde das Präzipitat gesammelt, mit dem Minimum an Wasser gewaschen und in vacuo getrocknet, so dass sich eine Gesamtausbeute von 3-Chloro-3-methyl-2-nitrosobutan (115 g, 0,85 mol, 73%) ergab > 98% rein nach NMR. NMR ^1H (CDCl₃). Als Gemisch von Isomeren (Isomer1, 90%) 1,5 d, (2H, CH₃), 1,65 d, (4H, 2 × CH₃), 5,85, q, und 5,95, q, zusammen 1H (Isomer 2, 10%), 1,76 s (6H, 2 × CH₃), 2,07 (3H, CH₃).

Beispiel 4: Synthese von bis[N-(1,1-Dimethyl-2-N-hydroxyiminpropyl)2-aminoethyl]-(2-aminoethyl)methan
(Chelator 1)

[0118] Zu einer Lösung aus Tris(2-Aminoethyl)methan (4,047 g, 27,9 mmol) in trockenem Ethanol (30 ml) wurde bei Raumtemperatur wasserfreies Kaliumcarbonat (7,7 g, 55,8 mmol, 2 eq) gegeben, und zwar mit kräftigem Rühren unter Stickstoffatmosphäre. Eine Lösung aus 3-Chloro-3-methyl-2-nitrosobutan (7,56 g, 55,8 mol, 2 eq) wurde in trockenem Ethanol (100 ml) gelöst, und 75 ml dieser Lösung wurden langsam in das Reaktionsgemisch getropft. Der Reaktion folgte TLC auf Silika [Plattendurchlauf in Dichlormethan, Methanol, konzentriertem (0,88 sg) Ammoniak; 100/30/5 und die TLC-Platte entwickelte sich durch Sprühen mit Ninhydrin und Erhitzen]. Bei den mono-, di- und trialkylierten Produkten wurde eine Zunahme der RF's beobachtet, und zwar in eben dieser Reihenfolge. Die Durchführung der analytischen HPLC erfolgte mittels RPR-Umkehrphasensäule in einem Gradienten von 7,5–75% Acetonitril in 3% wässrigem Ammoniak. Die analytische Reaktion wurde in *vacuo* konzentriert, um das Ethanol zu entfernen, und in Wasser resuspendiert (110 ml). Die wässrige Aufschämmung wurde mit Ether (100 ml) extrahiert, um etwas der trialkylierten Verbindung und lipophile Unreinheiten zu entfernen, woraufhin das mono- und das gewünschte dialkylierte Produkt in der Wasserschicht zurückblieben.

[0119] Die wässrige Lösung wurde mit Ammoniumacetat gepuffert (2 eq, 4,3 g, 55,8 mmol), um eine gute Chromatographie sicherzustellen. Bei 4°C wurde die wässrige Lösung über Nacht gelagert, bevor ihre Reinigung durch automatisierte präparative HPLC erfolgte.

Ausbeute (2,2 g, 6,4 mmol, 23%)

Mass.-Spek.; positives Ion, 10 V Spannungstrichter. Vorgefunden: 344; errechnet M+H = 344.

NMR ^1H (CDCl₃), δ 1,24 (6H, s, 2 × CH₃), 1,3 (6H, s, 2 × CH₃), 1,25–1,75 (7H, m, 3 × CH₂, CH), (3H, s, 2 × CH₂), 2,58 (4H, m, CH₂N), 2,88 (2H, t CH₂N₂), 5,0 (6H, s, NH₂, 2 × NH, 2 × OH).

NMR ^1H ((CD₃)₂SO) δ 1,14 × CH; 1,29, 3 × CH₂; 2,1 (4H, t, 2 × CH₂);

NMR ^{13}C ((CD₃)₂SO), δ 9,0 (4 × CH₃), 25,8 (2 × CH₃), 31,0 2 × CH₂, 34,6 CH₂, 56,8 2 × CH₂N; 160,3, C=N.

HPLC-Bedingungen: Flussrate 8 ml/min unter Verwendung einer 25 mm PRP-Säule A = 3% Ammoniaklösung (sp. gr = 0,88)/Wasser; B = Acetonitril:

Zeit	%B
0	7,5
15	75,0
20	75,0
22	7,5
30	7,5

[0120] Laden von 3 ml wässriger Lösung pro Durchlauf und Sammeln in einem Zeitfenster von 12,5–13,5 min.

Beispiel 5: Synthese von 3-1(4'-Fluorbiphenyl-4-sulfonyl)-(1-hydroxycarbamoylcyclopentyl)amino]propionsäure (Verbindung 27; Stand der Technik)

(Schritt A)

[0121] Zu einer Lösung aus 1-Aminocyclopentancarbonsäurebenzylester-p-toluolsulfonsäuresalz (12,1 g, 30,9 mmol) und Triethylamin (10,0 mL, 72 mmol) in Wasser (150 mL) und 1,4-Dioxan (150 mL) wurde 4'-Fluorbiphenyl-4-sulfonylchlorid (8,8 g, 32,5 mmol) gegeben. Bei Raumtemperatur wurde das Gemisch sechzehn Stunden lang gerührt, und dann wurde das meiste des Lösungsmittels durch Evaporation unter Vakuum entfernt. Das Gemisch wurde mit Ethylacetat verdünnt und nacheinander mit verdünnter Salzsäurelösung, Wasser und Sole gewaschen. Die Lösung wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und konzentriert, so dass 1-(4'-Fluorbiphenyl-4-sulfonylamino)cyclopentancarbonsäurebenzylester als Feststoff, 12,33 g (76%), übrigblieben.

(Schritt B)

[0122] Zu einer Lösung aus 1-(4'-Fluorbiphenyl-4-sulfonylamino)cyclopentancarbonsäurebenzylester (23,0 g, 50,7 mmol) in trockenem DMF (500 ml) wurden bei Raumtemperatur Kaliumhexamethyldisilazid (12,2 g, 61,1 mmol) und nach 45 Minuten tert-butyl-(3-iodopropoxy)dimethylsilan (18,3 g, 60,9 mmol) gegeben. Das daraus entstandene Gemisch wurde bei Raumtemperatur sechzehn Stunden lang gerührt. Dann wurden zusätzliches Kaliumhexamethyldisilazid (3,0 g, 15 mmol) und tert-butyl-(3-iodopropoxy)dimethylsilan (4,5 g, 15

mmol) hinzugefügt. Das Rühren bei Raumtemperatur wurde weitere fünf Stunden lang fortgesetzt. Durch die Zugabe gesättigter Ammoniumchloridlösung wurde das Gemisch gequencht. Das DMF wurde durch Evaporation unter Vakuum entfernt. Der Rest wurde in Diethylether aufgenommen und nacheinander mit Wasser verdünnter wässriger Salzsäurelösung und Sole gewaschen. Nach dem Trocknen über Magnesiumsulfat wurde der Diethylether verdampft, um ein gelbes Öl hervorzubringen. Diesem wurden Hexan und Methylenchlorid hinzugegeben, um die Kristallisierung des Ausgangsmaterials herbeizuführen, das durch Filtration zurückgewonnen wurde. Die Evaporation von Lösungsmitteln aus dem Filtrat ergab rohen 1-[[3-(tert-butyl-dimethylsilyloxy)propyl)-(4'-fluorbiphenyl-4-sulfonyl)amino]-cyclopentancarbonsäurebenzylester in Form von bernsteinfarbenem Öl (27,35 g).

(Schritt C)

[0123] Zu einer Lösung aus dem rohen 1-[[3-(tert-butyl-dimethylsilyloxy)propyl)-(4'-fluorbiphenyl-4-sulfonyl)amino]-cyclopentancarbonsäurebenzylester (27,35 g) in Methylenchlorid (450 mL) wurde bei Raumtemperatur Bortrifluorid-Etherat (11 mL, 89,4 mmol) gegeben. Nach 45 Minuten wurde die Reaktion durch sequentielle Zugabe gesättigter Ammoniumchloridlösung und Wasser gequencht. Die organische Phase wurde getrennt, mit Wasser und Sole gewaschen und dann über Magnesiumsulfat getrocknet. Die Evaporation des Lösungsmittels unter Vakuum lieferte rohen 1-[(4'-Fluorbiphenyl-4-sulfonyl)-(3-hydroxypropyl)amino]-cyclopentancarbonsäurebenzylester in Form eines bernsteinfarbenen Öls (22,1 g).

(Schritt D)

[0124] Eine Lösung aus dem rohen 1-[(4'-Fluorbiphenyl-4-sulfonyl)-3-hydroxypropyl)amino]-cyclopentancarbonsäurebenzylester (22,1 g) in Aceton (400 mL) wurde in einem Eisbad gekühlt und mit Jones-Reagenz behandelt (etwa 20 mL) bis eine orangene Farbe anhielt. Das Gemisch wurde von 0°C bis Raumtemperatur über zwei Stunden lang gerührt. Nachdem das überschüssige Oxidationsmittel mit Isopropanol (1 mL) gequencht worden war, wurde Celite® hinzugefügt und das Gemisch filtriert. Das Filtrat wurde unter Vakuum konzentriert. Der Rest wurde in Ethylacetat aufgenommen, mit Wasser und Sole gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und konzentriert, so dass roher 1-[(2-Carboxyethyl)-(4'-fluorbiphenyl-4-sulfonyl)amino]-cyclopentancarbonsäureethylester in Form eines Öls (21,4 g) hervorgebracht wurde.

(Schritt E)

[0125] Zu einer Lösung aus dem rohen 1-[(2-carboxyethyl)-(4'-fluorbiphenyl-4-sulfonyl)amino]-cyclopentancarbonsäurebenzylester (21,4 g) in DMF (500 mL) wurden bei Raumtemperatur Kaliumcarbonat (22,5 g, 163 mmol) und Methyljodid (3,7 mL, 59,4 mmol) gegeben. Bei Raumtemperatur wurde das Gemisch sechzehn Stunden lang gerührt und dann unter Vakuum konzentriert. Der Rest wurde in Wasser aufgenommen und mittels 6 N wässriger Wasserstoffchloridlösung gesäuert. Das daraus entstandene Gemisch wurde mit einem Gemisch aus Diethylether und Ethylacetat extrahiert. Das organische Extrakt wurde mit Wasser und Sole gewaschen und daraufhin über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Konzentration zu einem bernsteinfarbenen Öl wurde 1-[(4'-Fluorbiphenyl-4-sulfonyl)-(2-methoxycarbonylethyl)amino]cyclopentan-1-carbonsäurebenzylester (12,6 g), ein weißer Feststoff, durch Flash-Chromatographie auf Silika-Gel isoliert, bei Eluieren mit 15% Ethylacetat in Hexan.

(Schritt F)

[0126] Eine Lösung aus 1-[(4'-Fluorbiphenyl-4-sulfonyl)-(2-methoxycarbonylethyl)amino]-cyclopentan-1-carbonsäurebenzylester (12,1 g, 22,4 mmol) in Methanol (270 mL) wurde mit 10% Palladium auf aktivierter Kohle behandelt und in einem Parr®-Shaker bei 3-Atmosphären-Druck dreieinhalb Stunden lang hydriert. Nach Filtration durch Nylon (Porengröße 0,45 µm) zwecks Entfernung des Katalysators wurde das Lösungsmittel verdampft, so dass 1-[(4'-Fluorbiphenyl-4-sulfonyl)-(2-methoxycarbonylethyl)amino]cyclopentan-1-carbonsäure in Form eines weißen Schaums (10,1 g, 100%) hervorgebracht wurden.

(Schritt G)

[0127] Diisopropylethylamin (4,3 mL, 24,6 mmol) und (Benzotriazol-1-yloxy)tris-(dimethylamino)phosphoniumhexafluorophosphat (11,0 g, 24,9 mmol) wurden sequentiell einer Lösung aus 1-[(4'-Fluorbiphenyl-4-sulfonyl)-(2-methoxycarbonylethyl)-amino]cyclopentan-1-carbonsäure (10,1 g, 22,4 mmol) in N,N-Dimethylformamid (170 mL) hinzugegeben. Das Gemisch wurde vier Stunden lang gerührt. Dann wurden zusätzliches Diisopropylethylamin (7,8 mL, 44,6 mmol) und O-Benzylhydroxylaminhydrochlorid (4,64 g, 29,1 mmol) hinzugefügt,

und das daraus entstandene Gemisch wurde bei 60°C sechzehn Stunden lang gerührt. Nach Konzentration unter Vakuum wurde der Rest in Wasser aufgenommen und mit 1 N wässriger Wasserstoffchloridlösung gesäuert. Das Gemisch wurde mit Ethylacetat extrahiert, und das Extrakt wurde sequentiell mit Wasser, gesättigter Natriumbicarbonatlösung und Sole gewaschen. Die Lösung wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und konzentriert, so dass sich ein Feststoff ergab, der nach Trituration mit 7:3:1 Hexan/Ethylacetat/Methylenchlorid den 3-[(1-Benzylloxycarbamoylcyclopentyl)-(4'-fluorbiphenyl-4-sulfonyl)amino]propionsäuremethylester in Form eines weißen kristallinen Feststoffs (10,65 g, 86%) lieferte.

(Schritt H)

[0128] Eine Lösung aus 3-[(1-Benzylloxycarbamoylcyclopentyl)-(4'-fluorbiphenyl-4-sulfonyl)amino]propionsäuremethylester (10,65 g, 19,2 mmol) in Methanol (250 mL) wurde mit 5% Palladium auf Bariumsulfat behandelt und in einem Parr®-Shaker bei 3-Atmosphären-Druck drei Stunden lang hydriert. Nach Filtration durch Nylon (Porengröße 0,45 µm) zur Entfernung des Katalysators wurde das Lösungsmittel verdampft, so dass sich 3-[(4'-Fluorbiphenyl-4-sulfonyl)-(1-hydroxycarbamoylcyclopentyl)amino]propionsäuremethylester in Form eines weißen Schaums (8,9 g, 100%) ergab.

^1H NMR (DMSO- d_6) δ 8,80 (br s, 1H), 7,85-7,75 (m, 6H), 732-725 (m, 2H), 354 (s, 3H), 3,52-3,48 (m, 2H), 2,73-2,69 (m, 2H), 2,24-2,21 (m, 2H), 1,86-1,83 (m, 2H), 1,60-1,40 (m, 4H).

[0129] (Schritt I) Eine Lösung aus 3-[(4'-Fluorbiphenyl-4-sulfonyl)-(1-hydroxycarbamoylcyclopentyl)amino]propionsäuremethylester (8,9 g, 19,2 mmol) in Methanol (500 mL) wurde mit wässriger 1 N Natriumhydroxidlösung (95 mL, 95 mmol) behandelt und bei Raumtemperatur fünfeinhalb Stunden lang gerührt. Das Gemisch wurde zwecks Entfernung des Methanols konzentriert, mit Wasser verdünnt, mit 6 N wässriger Salzsäurelösung gesäuert und mit Ethylacetat extrahiert. Nach Waschen mit Wasser und Sole wurde das organische Extrakt über Magnesiumsulfat getrocknet und konzentriert, so dass 3-[(4'Fluorbiphenyl-4-sulfonyl)-(1-hydroxycarbamoylcyclopentyl)amino]propionsäure in Form eines weißen Schaums hervorgebracht wurde, der aus Ethylacetat (6,74 g, 78%) kristallisiert wurde. Mp: 163-164°C.

^1H NMR (DMSO- d_5) δ 12,30 (br s, 1H), 10,40 (br s, 1H), 8,77 (br s, 1H), 7,89-7,74 (m, 6H), 7,31-7,27 (m, 2H), 3,51-3,44 (m, 2H), 2,64-2,60 (m, 2H), 2,24-2,22 (m, 2H), 1,86-1,83 (m, 2H), 1,60-1,40 (m, 4H). MS 449 (M-1).

Beispiel 6: Synthese der Verbindung 23

[0130] Einer gerührten Lösung aus Verbindung 1, O-(1H-Benzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluroniumtetrafluorborat (TBTU) und N-Methylmorpholin in DMF wurde Tyramin hinzugegeben. Unter inerter Atmosphäre ließ man das Reaktionsgemisch 24 Stunden lang bei Raumtemperatur reagieren. Überwacht wurde die Reaktion mittels HPLC. Nach Abschluss wurde die klare gelbe Lösung konzentriert und vier Stunden lang unter Hochvakuum getrocknet. Das Rohprodukt wurde via präparative HPLC gereinigt, und die Ausbeute belief sich auf 88% naturweißen Feststoff.

^1H NMR (DMSO): δ 10,5 (1H, s, NH); 9,3 (1H, s, NH); '8,8 (1H, s, OH); 8 (1H, s, OH); '7,8 (2H, J = 8,8 Hz, d, Har); 7,3 (2H, J = 8Hz, t, Har); 7,2 (2H, d, J = 8 Hz, Har); 7,1 (2H, J = 8,8 Hz, d, Har); 7 (2H, J = 8,8 Hz, d, Har); 6,7 (2H, J = 8,8 Hz, d, 2H); 3,4 (2H, m, CH_2); 3,1 (2H, m, CH_2); 2,7 (2H, m, CH_2), 2,6 (2H, m, CH_2); 2,2-1,9 (4H, m, CH_2); 1,5 (4H, m, CH_2)

MS: (ESI) 586,2 (MH^+) und 608,2 (MNa^+)

HPLC: 98% rein.

Beispiel 7: Synthese der Verbindung 26

[0131] Einer gerührten Lösung aus Verbindung 1, (7-Azabenzotriazol-1-yloxy)trypyrrolidinophosphoniumhexafluorphosphat (PyAOP) und N-Methylmorpholin in DMF wurde Jodanilin hinzugegeben. Unter inerter Atmosphäre ließ man das Reaktionsgemisch drei Tage lang bei Raumtemperatur reagieren. Überwacht wurde die Reaktion mittels HPLC. Nach Abschluss wurde die Lösung konzentriert und vier Stunden lang unter Hochvakuum getrocknet. Das Rohprodukt wurde durch präparative HPLC gereinigt, und die Ausbeute belief sich auf 21% Feststoff.

MS: (ESI) 668 (MH^+) und 690 (MNa^+)

HPLC: 100% rein.

Beispiel 8: Synthese der Verbindung 24

Schritt A: Herstellung von 3-Jodtyramin

[0132] Eine Jodlösung [1 M, 2 ml] wurde bei Raumtemperatur langsam zu 20 ml einer Tyraminlösung (50 mM in 30% Ammoniak) gegeben. Nach fünf Stunden wurde die Lösung auf 5 ml konzentriert und über Nacht bei 0°C ruhen gelassen. Das naturweise Präzipitat, das sich gebildet hatte, wurde filtriert und mit kaltem Wasser gewaschen. Unter Hochvakuum wurde der Feststoff über Nacht getrocknet.

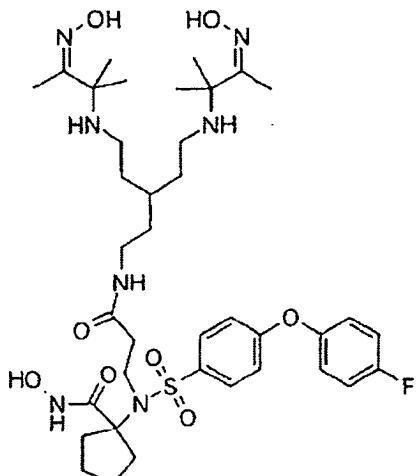
¹H NMR (CD₃OD): δ 2,7 (2H, t, J = 7 Hz); 2,9 (2H, t, J = 7 Hz); 6,7 (1H, d, J = 8,1 Hz); 7,1 (1H, dd, J = 2,2 Hz, 8 Hz); 7,5 (1H, d, J = 2,2 Hz).

Schritt B:

[0133] Zu einer gerührten Lösung aus Verbindung 1, O-(1H-Benzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium-tetrafluorborat (TBTU) und N-Methylmorpholin in DMF wurde 3-Jodtyramin (aus Schritt A) gegeben. Unter interer Atmosphäre ließ man das Reaktionsgemisch 24 Stunden lang bei Raumtemperatur reagieren. Überwacht wurde die Reaktion mittels HPLC. Nach Abschluss wurde die klare gelbe Lösung konzentriert und vier Stunden lang unter Hochvakuum getrocknet. Das Rohprodukt wurde durch präparative HPLC gereinigt, und die Ausbeute belief sich auf 10% naturweißen Feststoff (Verbindung 24).

MS (ESI): 712 (MH⁺) 734 (Mn⁺)

Beispiel 9: Synthese eines Chelator-MMPI-Konjugats (Verbindung 2)



Verbindung 2

[0134] Verbindung 1 (5,1 mg), PyAOP (6,0 mg) und N-Methylmorpholin (2 µl) wurden in Dimethylformamid (0,5 mL) gelöst, und das Gemisch wurde zwei Minuten lang gerührt. Chelator 1 (3,4 mg) wurde hinzugegeben, und das Reaktionsgemisch wurde über Nacht gerührt. 20% Acetonitril/Wasser (8 mL) wurden hinzugefügt, und das Produkt wurde mittels präparativer HPLC gereinigt (Säule: Phenomenex Luna 10 µ C18 (2) 250 × 10 mm, Detektion: 230 nm, Lösungsmittel A: H₂O/0,1% TFA, Lösungsmittel B: CH₃CN/0,1% TFA, Flussrate: 5 mL/min, Gradient: 20–60% B über 30 min, t_R: 17 min). Nach Lyophilisierung wurde 1 mg reines Material erhalten und durch LC-MS charakterisiert (Säule: Phenomenex Luna 5 µ C18 (2) 250 × 4,6 mm, Detektion: 214 nm, Lösungsmittel A: H₂O/0,1% TFA, Lösungsmittel B: CH₃CN/0,1% TFA, Flussrate: 1 mL/min, Gradient: 20–60% B über 20 min, t_R: 14,32 min, vorgefunden m/z: 792,5, erwartet MH⁺: 792,4).

Beispiel 10: Synthese eines Amino-PEG-Linker-derivatisierten MMPi's (Verbindung 4)

Schritt (a): 1,11-Diazido-3,6,9-trioxaundecan

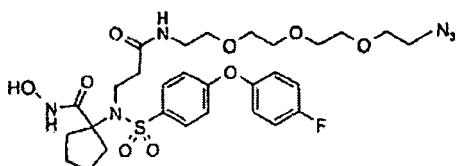
[0135] Eine Lösung aus trockenem Tetraethylenglykol (19,4 g, 0,100 mol) und Methansulfonylchlorid (25,2 g, 0,220 mol) in trockenem THF (100 ml) wurde unter Argon gehalten und in einem Eis-/Wasserbad auf 0°C gekühlt. In den Kolben wurde eine Lösung aus Triethylamin (22,6 g, 0,220 mmol) in trockenem THF (25 ml) tropfenweise über 45 min gegeben. Nach einer Stunde wurde das Kühlbad entfernt, und das Rühren wurde vier Stunden lang fortgesetzt. Es erfolgte das Hinzufügen von Wasser (60 ml). Zu dem Gemisch wurden der Reihe nach Natriumhydrogencarbonat (6 g, zu pH-Wert 8) und Natriumazid (14,3 g, 0,220 mmol) gegeben. THP wurde durch Destillation entfernt, und die wässrige Lösung wurde 24 Stunden lang refluxiert (Bildung zweier

Schichten). Das Gemisch wurde gekühlt, und Ether (100 ml) wurde hinzugefügt. Die wässrige Phase wurde mit Natriumchlorid gesättigt. Die Phasen wurden getrennt, und die wässrige Phase wurde mit Ether extrahiert (4 × 50 ml). Kombinierte organische Phasen wurden mit Sole gewaschen (2 × 50 ml) und getrocknet (MgSO_4). Filtration und Konzentration ergaben 22,1 g (91%) eines gelben Öls. Ohne weitere Reinigung wurde das Produkt im nächsten Schritt verwendet.

Schritt (b): 11-Azido-3,6,9-trioxaundecanamin

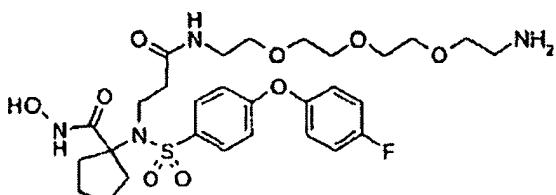
[0136] Zu einer mechanisch kräftig gerührten Suspension aus 1,11-Diazido-3,6,9-trioxaundecan (20,8 g, 0,085 mol) in 5% Salzsäure (200 ml) wurde eine Lösung aus Triphenylphosphin (19,9 g, 0,073 mol) in Ether (150 ml) über drei Stunden bei Raumtemperatur gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde zusätzliche 24 Stunden lang gerührt. Die Phasen wurden getrennt, und die wässrige Phase wurde mit Dichlormethan (3 × 40 ml) extrahiert. In einem Eis-/Wasserbad wurde die wässrige Phase gekühlt, und der pH-Wert wurde durch Zugabe von KOH auf etwa 12 reguliert. Das Produkt wurde in Dichlormethan (5 × 50 ml) extrahiert. Kombinierte organische Phasen wurden getrocknet (MgSO_4). Filtration und Evaporation ergaben 14,0 g (88%) gelben Öls. Die Analyse durch MALDI-TOF-Massenspektroskopie (Matrix: α -cyano-4-hydroxyzimtsäure) ergaben, wie erwartet, einen $\text{M}+\text{H}$ -Peak bei 219. Mithilfe einer weiteren Charakterisierung durch ^1H (500 MHz) und ^{13}C (125 MHz) NMR-Spektroskopie wurde die Struktur verifiziert.

Schritt (c) Synthese von (Verbindung 1)-PEG(3)- N_3



[0137] Zu einer Lösung aus Verbindung 1 (41 mg, 87 μmol) in DMF (5 ml) wurden 11-Azido-3,6,9-trioxaundecanamin (19 mg, 87 μmol), HATU (Applied Biosystems, 33 mg, 87 μmol) und DIEA (Fluka, 30 μl , 174 μmol) gegeben. Nach einer einstündigen Reaktionszeit wurde das Gemisch konzentriert, und der Rest wurde durch präparative HPLC gereinigt (Säule: Phenomenex Luna C18 (2), 5 μm , 21,2 × 250 mm, Lösungsmittel: A = Wasser/0,1% TFA und B = Acetonitril/0,1% TFA; Gradient 30–60% B über 60 min; Flussrate: 10,0 ml/min, UV-Detektion bei 214 nm), woraus nach Lyophilisierung 33,9 mg (59%) Produkt hervorgingen. Eine LC-MS-Analyse (Säule Phenomenex Luna C18 (2), 3 μm , 50 × 4,60 mm, Lösungsmittel: A = Wasser/0,1% TEA und B = Acetonitril/0,1% TFA; Gradient 20–100% B über 10 min; Flussrate: 1 ml/min, UV-Detektion bei 214 nm, ESI-MS) ergaben, wie erwartet, einen Peak bei 4,88 min mit m/z 667,4 (MH^+).

Schritt (d): Synthese der Verbindung 4

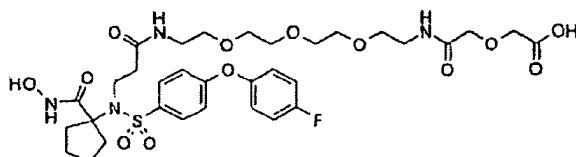


Verbindung 4

[0138] Zu einer Lösung aus (Verbindung 1)-PEG(3)- N_3 (4,7 mg, 7 μmol) in Methanol (4 ml) wurde Pd/C (Koch-Light, ca. 10 mg) gegeben. Unter Wasserstoffatmosphäre (1 atm) wurde das Gemisch bei Raumtemperatur zehn Minuten lang gerührt. Dann wurde das Gemisch filtriert und konzentriert. Die LC-MS-Analyse (Säule: Phenomenex Luna C18 (2), 3 μm , 50 × 4,60 mm, Lösungsmittel: A = Wasser/0,1% TFA und B = Acetonitril/0,1% TFA; Gradient 20–100% B über 10 min; Flussrate: 1 ml/min, UV-Detektion bei 214 nm, ESI-MS) ergab, wie erwartet, einen Peak bei 4,17 min mit m/z 641,4 (MH^+). Ohne weitere Reinigung wurde das Produkt direkt in den nachfolgenden Schritten verwendet.

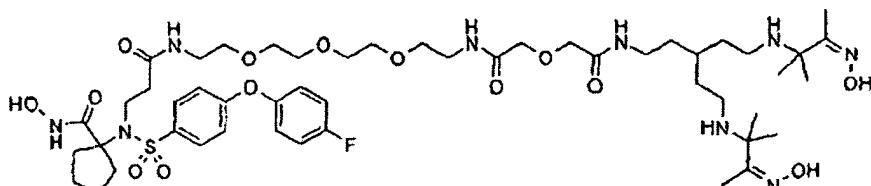
Beispiel 11: Synthese des Chelatorkonjugats mit PEG(3)-Diglycolyl-Spacer (Verbindung 3)

Schritt (a): Synthese der (Verbindung 1)-PEG(3)-Diglycolsäure



[0139] Zu einer Lösung aus (Verbindung 1)-PEG(3)-NH₂ (Beispiel 6, 25 mg, 39 µmol) in DMF (4 ml) wurde Diglycolsäureanhydrid (Acres, 9 mg, 78 µmol) gegeben. Nach eineinhalbstündigem Rühren wurde das Reaktionsgemisch konzentriert, und der Rest wurde mittels präparativer HPLC gereinigt (Säule: Phenomenex Luna C18 (2), 5 µm, 212 × 250 mm, Lösungsmittel: A = Wasser/0,1% TFA und B = Acetonitril/0,1% TFA; Gradient 20–80% B über 60 mm; Flussrate: 10,0 ml/min, UV-Detektion bei 214 nm), woraus 14,9 mg (51%) lyophilisiertes Material hervorgingen. Das Produkt wurde durch LC-MS analysiert (Säule: Phenomenex Luna C18 (2), 3 µm, 50 × 4,60 mm, Lösungsmittel: A = Wasser/0,1% TFA und B = Acetonitril/0,1% TFA Gradient 20–100% B über 10 min; Flussrate: 1 ml/min, UV-Detektion bei 214 nm, EST-MS), und es ergab sich ein Peak bei 4,15 min mit m/z 757,3 (MH⁺) in Entsprechung zum Produkt. Eine weitere Charakterisierung wurde mittels NMR-Spektroskopie vorgenommen.

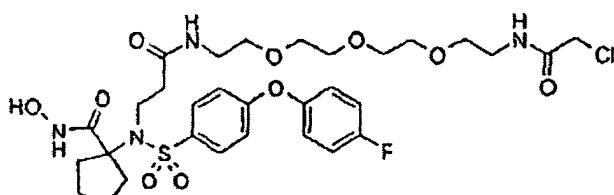
Schritt (b): Synthese der Verbindung 3



Verbindung 3

[0140] Zu einer Lösung aus (Verbindung 1)-PEG(3)-Diglycolsäure (6,6 mg, 9 µmol) in DMF (3 ml) wurden Chelator 1 (3,1 mg, 9 µmol), HATU (Applied Biosystems, 3,4 mg, 9 µmol) und DIEA (Fluka, 3,1 µl, 18 µmol) gegeben. Nach zwanzigminütiger Reaktionszeit wurde das Gemisch konzentriert, und der Rest wurde mittels präparativer HPLC gereinigt (Säule: Phenomenex Luna C18 (2), 5 µm, 21, 2 × 250 mm, Lösungsmittel: A = Wasser/0,1% TFA und B = Acetonitril/0,1% TFA; Gradient 10–80% B über 60 min; Flussrate: 10,0 ml/min, UV-Detektion bei 214 nm), woraus 4,2 mg (43%) lyophilisierten Produkts hervorgingen. Die IC-MS-Analyse (Säule: Phenomenex Luna C18 (2), 3 µm, 50 × 4,60 nun, Lösungsmittel A = Wasser/0,1% TFA und B = Acetonitril/0,1% TFA; Gradient 20–100% B über 10 min; Flussrate: 1 ml/min, UV-Detektion bei 214 nm, ESI-MS; t_R = 4,17 min, m/z 1082,5 (MH^+)) und die NMR-Spektroskopie bestätigten die Struktur.

Beispiel 12: Synthese des Chloracetylderivats für die PET-Bildgebung (Verbindung 5)



Verbindung 5

[0141] Frisch hergestelltes Chloressigsäureanhydrid (52 mg, 0,30 mmol) und DIEA (51 µl, 0,30 mmol) wurden zu einer Lösung aus Verbindung 4 (Beispiel 10, Schritt d, ca. 0,15 mmol) in DMF (10 ml) gegeben. Nach einer Stunde wurde das Reaktionsgemisch konzentriert, und der Rest wurde mittels präparativer HPLC gereinigt (Säule: Phenomenex Luna C18 (2), 10 µm, 50 × 250 mm, Lösungsmittel: A = Wasser/0,1% TFA und B = Acetonitril/0,1% TFA; Gradient 30–40% B über 60 min; Flussrate: 50,0 ml/min, UV-Detektion bei 214 nm), woraus nach Lyophilisierung 25,8 mg (24%) Produkt hervorgingen. Die IC-MS-Analyse (Säule: Phenomenex Luna C18 (2), 3 µm, 50 × 4,60 mm, Lösungsmittel: A = Wasser/0,1% TFA und B = Acetonitril/0,1% TFA; Gradient 20–100% B über 10 min; Flussrate: 1 ml/min, UV-Detektion bei 214 nm, ESI-MS) ergab, wie erwartet, einen Peak bei 6,01 min mit m/z 717,5 (MH^+).

Beispiel 13: Konjugation von 3-Fluorpropylthiol an chloracetylierte Verbindung (Verbindung 6)

Schritt (a): Synthese von 3-Tritylsulfanyl-propan-1-ol[Ph₃C-S(CH₂)₃OH]

[0142] Triphenylmethanol (390,6 mg, 1,5 mmol) in TFA (10 ml) wurde tropfenweise einer gerührten Lösung aus 3-Mercaptopropylalkohol (129,6 µl, 1,5 mmol) in TFA (10 ml) hinzugegeben. Nach der Zugabe wurde TFA unter reduziertem Druck verdampft, und das Rohprodukt wurde sofort mittels präparativer Umkehrphasenchromatographie gereinigt (Säule: Phenomenex Luna C18, 00G-4253-V0; Lösungsmittel A = Wasser/0,1% TFA und B = $\text{CH}_3\text{CN}/0,1\%$ TFA; Gradient 70–80% B über 60 min; Flussrate: 50 ml/Minute; Detektion bei 254 nm), woraus 372 mg (74%) reine Verbindung hervorgingen. (Analytische HPLC: Vydac C18 Säule, 218TP54: Lösungsmittel: A = Wasser/0,1% TFA und B = $\text{CH}_3\text{CN}/0,1\%$ TFA, Gradient 70–80% B über 20 min; Flussrate: 1,0 ml/min; Retentionszeit 5,4 min, detektiert bei 214 und 254 nm). Die Struktur wurde durch NMR-Spektroskopie verifiziert.

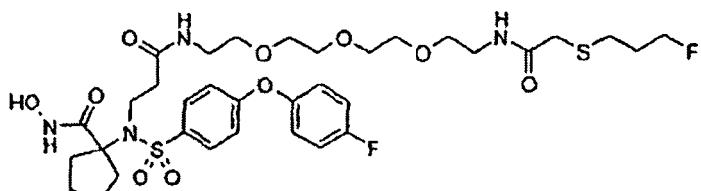
Schritt (b): Synthese von Methansulfonsäure-3-tritylsulfanyl-propylester [$\text{Ph}_3\text{C-S(CH}_2\text{)}_3\text{O-Ms}$]

[0143] Zu einer Lösung aus 3-Tritylsulfanyl-propan-1-ol (372,0 mg, 1,11 mmol) in THF (10 ml) wurden Triethylamin (151,7 mg, 209 µl, 1,5 mmol) und Mesylchlorid (171,9 mg, 116,6 µl, 1,5 mmol) gegeben. Nach einstündiger Reaktionszeit wurde das Präzipitat durch Filtration entfernt. Die Lösung wurde konzentriert, und der Rest wurde durch Umkehrphasen-HPLC gereinigt (Säule: Phenomenex Luna C18, 00G-4253-V0; Lösungsmittel A = Wasser/0,1% TFA und B = $\text{CH}_3\text{CN}/0,1\%$ TFA; Gradient 80–100% B über 60 min; Flussrate: 50 ml/min; Detektion bei 254 nm), woraus 318 mg (69%) reine Verbindung hervorgingen. (Analytische HPLC: Vydac C18-Säule, 218TP54: Lösungsmittel: A = Wasser/0,1% TEA und B = $\text{CH}_3\text{CN}/0,1\%$ TFA; Gradient 60–70% B über 20 min; Flussrate: 1,0 ml/min; Retentionszeit 18,7 min, detektiert bei 214 und 254 nm). Die Verifizierung der Struktur erfolgte mittels NMR-Spektroskopie.

Schritt (c): Synthese von (3-Fluoro-propylsufanyl)triphenylmethan [$\text{Ph}_3\text{C-S(CH}_2\text{)}_3\text{F}$]

[0144] Kaliumfluorid (1,4 mg, 0,024 mmol) und Kryptofix 222 (9,0 mg, 0,024 mmol) wurden in Acetonitril (0,2 ml) (Erhitzen) gelöst. Eine Lösung aus Methansulfonsäure-3-tritylsulfanylpropylester (5 mg, 0,012 mmol) in Acetonitril (0,2 ml) wurde hinzugegeben. Bei 80°C wurde das Reaktionsgemisch 90 min lang erhitzt. Das Rohprodukt wurde durch präparative Umkehrphasenchromatographie gereinigt (Vydac C18-Säule, 218TP1022; Lösungsmittel A = Wasser/0,1% TFA und B = CH₃CN/0,1% TFA; Gradient 40–90% B über 40 min; Flussrate: 10 ml/min; Detektion bei 254 nm). Eine Ausbeute von 2 mg (50%) gereinigten Materials wurde erhalten (analytische HPLC: Säule: Phenomenex Luna C18, 00B-4251-E0; Lösungsmittel: A = Wasser/0,1% TFA und B = CH₃CN/0,1% TFA; Gradient 40–80% B über 10 min; Flussrate: 2,0 ml/min; Retentionszeit 8,2 min, detektiert bei 214 und 254 nm). Die Struktur wurde mittels NMR-Analyse bestätigt.

Schritt (d): Synthese der Verbindung 6

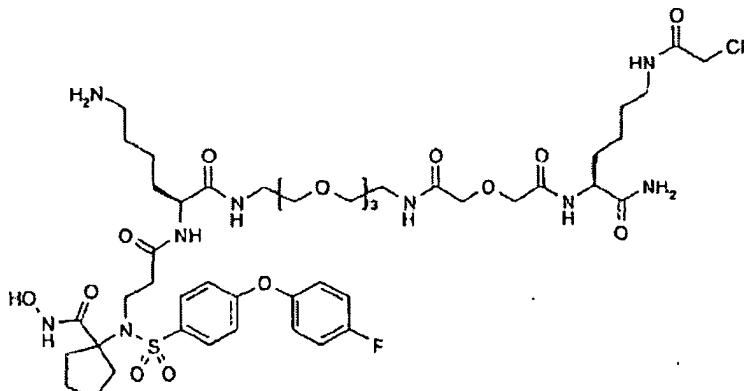


Verbindung 6

[0145] 3-Fluoro-tritylsulfanylpropan (1,4 mg, 4 μ mol) wurde in ein Gemisch aus TFA (50 μ l), Triisopropylsilan (5 μ l) und Wasser (5 μ l) gerührt. Das Gemisch wurde einer Lösung aus Verbindung 5 (1,5 mg, 2 μ mol) in einem 1:1 Gemisch aus Wasser und Acetonitril (800 μ l) hinzugegeben. Der pH-Wert wurde durch Hinzufügen von wässrigem K_2CO_3 (200 μ l, 0,5 g/ml auf 10 reguliert, und bei 60°C wurde das Gemisch 25 Minuten lang erhitzt. Gereinigt wurde das Produkt mittels präparativer HPLC (Säule: Phenomenex Luna C18 (2), 5 μ m, 10,0 \times 250 mm, Lösungsmittel: A = Wasser/0,1% TFA und B = Acetonitril/0,1% TFA; Gradient 30–50% B über 60 min; Flussrate: 5,0 ml/min; UV-Detektion bei 214 nm), woraus eine Produktmenge von 0,9 mg (58%) hervorging. Die Bestätigung der Struktur erfolgte durch eine IC-MS-Analyse (Säule: Phenomenex Luna C18 (2), 3 μ m, 50 \times 4,60 mm, Lösungsmittel: A = Wasser/0,1% TFA und B = Acetonitril/0,1% TFA; Gradient 10–80% B über 10 min; Flussrate: 1 ml/min, UV-Detektion bei 214 nm, ESI-MS; t_R = 6,25 min, m/z 775,4 (MH^+)).

Beispiel 14: Chloracetylierte Aminosäure- und PEG-Derivate für die PET-Bildgebung (Verbindung 7 bis 22)

[Verbindung 1]-Lys-Peg(4)-Diglycolyl-Lys(chloracetyl)-NH₂ (Verbindung 7)



Verbindung 7

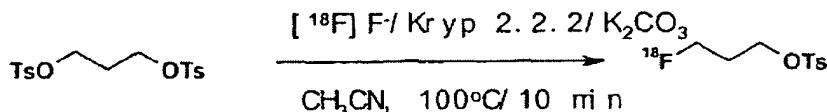
[0146] Verbindung 7 wurde mithilfe eines manuellen Stickstoff-Bubbler-Geräts in einem Maßstab von 0,05 mmol unter Verwendung von Fmoc-geschütztem Rink-Amid-MBHA-Harz (Novabiochem), Fmoc-Lys(Dde)-OH (Novabiochem), Fmoc-Lys(Boc)-OH (Novabiochem), Fmoc-amino-PEG-Diglycolsäure (Polypure AS) und CP-471358 (Pfizer) synthetisiert. Alle Aminosäuren und CP-471358 wurden gekoppelt, wobei HATU/DIEA als Kopplungsreagenzien benutzt wurden. Die Analyse der Reaktionsschritte erfolgte mittels Kaiser-Test. Nach dem Koppeln der CP-Verbindungs-Seitenkette-Dde-Gruppe des C-Terminus wurde Lysin durch eine Hydrazin-Standardbehandlung gespalten. Chloressigsäure (Fluka) wurde durch frisch hergestelltes symmetrisches Anhydrid gekoppelt. Die gleichzeitige Produktentfernung aus dem Harz und die Spaltung der Seitenketten-Boc-Schutzgruppe wurde zwei Stunden lang in TFA durchgeführt, welches 2,5% H₂O und 2,5% Triisopropylsilan enthielt. Rohmaterial wurde aus Ether präzipitiert und durch präparative HPLC gereinigt (Säule: Phenomenex Luna C18 (2), 10 µm, 250 × 10 mm; Lösungsmittel A = Wasser/0,1% TFA und B = Acetonitril/0,1% TFA; Gradient 20–40% B über 60 min; Flussrate: 5,0 ml/min; UV-Detektion bei 214 nm), woraus sich 5,0 mg weißer Feststoff ergaben.

[0147] Die Analyse mittels LC-MS (Säule: Phenomenex Luna C18 (2), 3 µm, 2,0 × 50 mm, Lösungsmittel: A = Wasser/0,1% TFA und B = Acetonitril/0,1% TFA; Gradient 10–80% B über 10 min; Flussrate 0,3 ml/min, UV-Detektion bei 214 und 254 nm, ESI-MS positiver Modus) ergaben einen Peak bei 5,9 min mit m/z 1088, wie für MH⁺ erwartet.

[0148] Unter Verwendung des Verfahrens der Festphasenpeptidsynthese wurden die Verbindungen 8 bis 22 in der gleichen Weise hergestellt und durch MS charakterisiert.

Beispiel 15: Synthese des ¹⁸F-markierten Derivats für die N-Alkylierung

Synthese des 3-[¹⁸F]Fluorpropyltosylats



[0149] Via einen Zweiweg-Verzweiger wurden Kryptofix 222 (10 mg) in Acetonitril (300 µl) und Kaliumcarbonat (4 mg) in Wasser (300 µl), hergestellt in einem Glasvial, mittels einer Kunststoffspitze (1 ml) in ein Kohlenstoffglasreaktionsgefäß transferiert, dass sich in einer Messingheizvorrichtung befand. Daraufhin wurde ¹⁸F-Fluorid (185–370 MBq) durch den Zweiweg-Verzweiger in das Target-Wasser (0,5–2 ml) gegeben. Die Heizvorrichtung wurde auf 125°C eingestellt und das Zeitmessgerät gestartet. Nach 15 min wurden drei Aliquots Acetonitril (0,5 ml) in einminütigen Intervallen hinzugefügt. Das ¹⁸F-Fluorid wurde insgesamt bis zu 40 min lang getrocknet. Nach 40 min wurde die Heizvorrichtung mittels komprimierter Luft heruntergekühlt, der Gefäßdeckel wurde abgenommen, und 1,3-Propandiol-di-p-tosylat (5–12 mg) und Acetonitril (1 ml) wurden hinzugegeben. Der Gefäßdeckel wurde wieder aufgesetzt, und die Leitungen wurden mit Stöpseln gekappt. Die Heizvorrichtung wurde auf 100°C eingestellt, und bei 100°C/10 min wurde das Markieren vorgenommen. Nach dem Markieren wurde 3-[¹⁸F]Fluorpropyltosylat durch eine RP-HPLC von Gilson isoliert, wobei die folgenden

Bedingungen genutzt wurden:

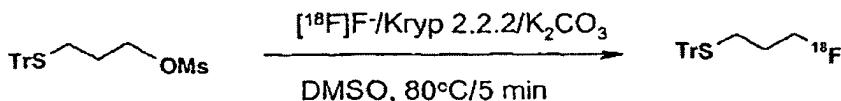
Säule	μ-Bondapak C18, 7,8 × 300 mm
Eluent	Wasser (Pumpe A) : Acetonitril (Pumpe
Schleifengröße	B)
Pumpgeschwindigkeit	1 ml
Wellenlänge	4 ml/min
Gradient	254 nm
Produkt Rt	5–90% Eluent B über 20 min
	12 min

[0150] Sobald sie isoliert war, wurde die entnommene Probe (ca. 10 ml) mit Wasser (10 ml) verdünnt und auf eine konditionierte C18 Sep-Pak gegeben. Die Sep-Pak wurde mit Stickstoff 15 min lang getrocknet und mit einem organischen Lösungsmittel, Pyridin (2 ml), Acetonitril (2 ml) oder DMF (2 ml) abgespült. Annähernd 99% der Aktivität wurden abgespült.

[0151] -3-[¹⁸F]Fluorpropyltosylat wird zur N-Alkylierung von Aminen durch Refluxieren in Pyridin eingesetzt.

Beispiel 16: [¹⁸F]-Thiolderivat für die S-Alkylierung

Schritt (a): Herstellung von 3-[¹⁸F]Fluor-tritylsulfanyl-propan

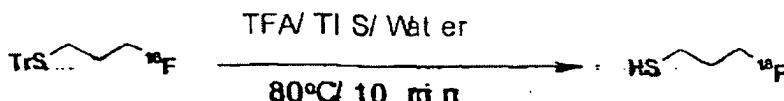


[0152] Via einen Zweiweg-Verzweiger wurden Kryptofix 222 (10 mg) in Acetonitril (800 µl) und Kaliumcarbonat (1 mg) in Wasser (50 µl), hergestellt in einem Glasvial, mithilfe einer Kunststoffspritze (1 ml) zum Kohlenstoffglasreaktionsgefäß transferiert, das sich in der Messingheizvorrichtung befand. Dann wurde auch ¹⁸F-Fluorid (185–370 MBq) im Target-Wasser (0,5–2 ml) durch den Zweiweg-Verzweiger hinzugefügt. Der Ofen wurde auf 125°C eingestellt und der Zeitmesser gestartet. Nach 15 Minuten wurden drei Aliquots Acetonitril (0,5 ml) in einminütigen Intervallen hinzugegeben. Das ¹⁸F-Fluorid wurde insgesamt bis zu 40 min lang getrocknet. Nach 40 min wurde die Heizvorrichtung mit komprimierter Luft heruntergekühlt, der Gefäßdeckel wurde abgenommen, und Trimethyl-(3-Tritylsulfanylpropoxy)silan (1–2 mg) und DMSO (0,2 ml) wurden hinzugefügt. Der Gefäßdeckel wurde wieder aufgesetzt, und die Leitungen wurden mit Stöpseln gekappt. Die Heizvorrichtung wurde auf 80°C eingestellt, und das Markieren erfolgte bei 80°C/5 min. Nach dem Markieren wurde das Reaktionsgemisch mittels RP-HPLC analysiert, wobei die folgenden HPLC-Bedingungen genutzt wurden:

Säule	μ-Bondapak C18, 7,8 × 300 mm
Eluent	0,1% TFA/Wasser (Pumpe A): 0,1% TFA/Acetonitril (Pumpe B)
Schleifengröße	100 µl
Pumpgeschwindigkeit	4 ml/min
Wellenlänge	254 nm
Gradient	1 min 15 min 5 min 40% B 40%–80% B 80% B

[0153] Das Reaktionsgemisch wurde mit DMSO/Wasser (1:1 v/v, 0,15 ml) verdünnt und auf eine konditionierte C18 Sep-Pak gegeben. Die Kartusche wurde mit Wasser (10 ml) gewaschen, mit Stickstoff getrocknet, und 3-[¹⁸F]Fluoro-1-tritylsulfanylpropan wurde mit 4 Aliquots Acetonitril (0,5 ml pro Aliquot) eluiert.

Schritt (b): Herstellung von 3-[¹⁸F]Fluor-propan-1-thiol



[0154] Eine Lösung aus 3-[¹⁸F]Fluor-1-tritylsulfanyl-propan in Acetonitril (1–2 ml) wurde mittels eines Stickstoffstroms bei 100°C/10 min bis zur Trockenheit verdampft. Ein Gemisch aus TFA (0,05 ml), Triisopropylsilan (0,01 ml) und Wasser (0,01 ml) wurde hinzugefügt, gefolgt von einem Erhitzen bei 80°C/10 min, um 3-[¹⁸F]Fluor-propan-1-thiol zu erzeugen.

Schritt (c): Reaktion mit -N(CO)CH₂Cl-Vorläufern

[0155] Ein allgemeines Verfahren zum Markieren eines Chloracetyl-Vorläufers besteht darin, das Reaktionsgefäß, welches das 3-[¹⁸F]Fluor-1-Mercapto-propan aus Schritt (b) enthält, mit komprimierter Luft zu kühlen und daraufhin Ammoniak (27% in Wasser, 0,1 ml) und den Vorläufer (1 mg) in Wasser (0,05 ml) hinzugeben. Das Gemisch wird bei 80°C/10 min erhitzt.

Beispiel 17: Synthese der Verbindungen 45–48

Schritt (a): Synthese von Aminoxy-Vorläufern

[0156] Die Verbindungen 45 und 47 wurden unter Verwendung eines manuellen Stickstoff-Bubbler-Geräts in einem Maßstab von 0,2 mmol, beginnend mit Fmoc-geschütztem Rink-Amid-MBHA-Harz (Novabiochem), synthetisiert. Fmoc-Aminosäuren wurden bei Novabiochem und monodisperse Fmoc-PEG-Aminosäuren bei Polypure AS erworben. Boc-(aminoxy)essigsäure wurde bei Fluka erstanden. Nach Anbindung von Dde-Lys(Fmoc)-OH an das Harz wurde die Seitenkette-Fmoc-Gruppe gespalten, gefolgt vom Koppeln der Boc(aminoxy)essigsäure. Die Dde-Gruppe wurde durch eine Hydrazin-Standardbehandlung gespalten. Lysin wurde mittels HATU/DIEA gekoppelt, wohingegen für alle anderen Kopplungsvorgänge PyAOP/DIEA benutzt wurde. Glukose-O-Acetylgruppen wurden durch Reaktion mit Natriummethoxid in Methanol entfernt, bevor das Material vom festen Träger abgespalten wurde. Die gleichzeitige Entfernung des Produkts aus dem Harz und die Spaltung der Seitenkette-Schutzgruppen wurde in TFA, welches 2,5% H₂O und 2,5% Trisopropylsilan enthielt, 1–2 Stunden lang durchgeführt. Die Reinigung des Rohmaterials erfolgte durch präparative HPLC (Säule: Phenomenex Luna C18 (2), 5 µ, 21,2 × 250 mm; Lösungsmittel A = Wasser/0,1% TFA und B = Acetonitril/0,1% TFA; geeigneter Gradient über 60 min; Flussrate 10,0 ml/min; UV-Detektion bei 214 nm), woraus sich weiße Feststoffe oder viskose, farblose Öle nach Lyophilisierung ergaben. Die Identität der Produkte wurde durch LC-MS-Analyse bestätigt (Säule: Phenomenex Luna C18 (2), 3 µ, 2,0 × 50 mm, Lösungsmittel: A = Wasser/0,1% TFA und B = Acetonitril/0,1% TFA; geeigneter Gradient über 10 min; Flussrate: 0,3 ml/min, UV-Detektion bei 214 und 254 nm, ESI-MS positiver Modus).

Schritt (b): Konjugation zwecks Erhalt der nichtradioaktiven Fluorverbindungen 46 und 48

[0157] 4-Fluorbenzaldehyd und 4-(3-Fluorpropoxy)benzaldehyd wurden jeweils bei Fluka und Fluorchem erworben. Zu einer Lösung aus dem Aminoxy-Vorläufer (ca. 5 µmol) aus Schritt a) in 20% Acetonitril (3 ml) wurde Aldehyd (fünffache Menge) gegeben. Bei Raumtemperatur wurde das Gemisch 15 min lang gerührt und konzentriert. Das Produkt wurde gereinigt und wie oben in Schritt (a) analysiert.

Beispiel 18: In Vitro Metalloproteinase-Inhibitions-Assay

[0158] Verbindungen wurden gescreent, wobei die folgenden im Handel erhältlichen Biomol-Assay-Kits zum Einsatz kamen:

MMP-1 Kit für kolorimetrischen Assay – Katalognummer AK-404,
 MMP-2 Kit für kolorimetrischen Assay – Katalognummer AK-408,
 MMP-8 Kit für kolorimetrischen Assay – Katalognummer AK-414,
 MMP-9 Kit für kolorimetrischen Assay – Katalognummer AK-410,
 MMP-12 Kit für kolorimetrischen Assay – Katalognummer AK-402,

[0159] Diese Kits sind erhältlich bei Affiniti Research Products Ltd. (Palatine House, Matford Court, Exeter, EX2 8NL, UK).

(a) Herstellung der Testverbindung

[0160] Inhibitoren wurden in Pulverform bereitgestellt und bei 4°C gelagert. Für jeden Inhibitor wurde eine 1 mM Stammlösung in DMSO hergestellt und in 20 µl Aliquots gegeben; diese Aliquots wurden bei -20°C gelagert. Die Stammlösung wurde so verdünnt, dass sie acht Inhibitorkonzentrationen ergab (Empfehlung: 50 µM, 5 µM, 500 nM, 50 nM, 5 nM, 500 pM, 50 pM und 5 pM). Das Verdünnen erfolgte im Assaypuffer des Kits. Eine fünffache Verdünnung der Inhibitor-Stammlösungen wurde durch Hinzunahme der Assay-Wellen vorgenommen, weshalb ein endgültiger Konzentrationsbereich von 10 µM bis 1 pM zustande kam.

(b) Versuchsablauf

[0161] Detaillierte Angaben liegen dem handelsüblichen Kit bei, lassen sich aber folgendermaßen zusammenfassen:

- Herstellen der verdünnten Lösungen für die Testverbindungen, wie oben beschrieben,
- Hinzugeben des Assaypuffers zur Platte,
- Hinzugeben der Testverbindungen zur Platte,
- Herstellen des standardmäßigen Kit-Inhibitors NNGH (bezüglich des Verdünnungsfaktors, siehe Kit),
- Hinzugeben von NNGH zu Kontrollinhibitor-Wellen,
- Herstellen des MMP-Enzyms (bezüglich des Verdünnungsfaktors, siehe Kit), Hinzugeben von MMP zur Platte,
- etwa 15-minütiges Inkubieren der Platte bei 34°C,
- Herstellen des Thiopeptolidsubstrats (bezüglich des Verdünnungsfaktors, siehe Kit),
- Hinzugeben des Substrats zur Platte,
- Einstündiges Zählen in Intervallen von zwei Minuten, bei 37°C, 414 nm, auf einem Labsystems iEMS-Plattenleser (bei MNM-1 erfolgt das Zählen 20 Minuten lang in Intervallen von 30 Sekunden).

(c) Ergebnisse

[0162] Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 aufgeführt:

Tabelle 1

Verbindung	MMP-1 (Ki)	MMP-2 (Ki)	MMP-8 (Ki)	MMP-9 (Ki)	MMP-12 (Ki)
20	-	0,15 ± 0,06 nM (n = 2)	-	0,043 ± 0,02 nM (n = 2)	0,11 nM
21	194,9 nM	1,15 ± 0,15 nM (n = 3)	0,87 nM	0,820 ± 0,049 (n = 3)	-
24	4948,5 ± 2684,9 nM (n = 2)	0,14 ± 0,06 nM (n = 3)	3,93 nM	0,58 ± 0,3 nM (n = 3)	0,67 ± 0,14 nM (n = 2)
32	330 nM	0,62 ± 0,15 nM (n = 4)	2,17 nM	0,37 ± 0,092 nM (n = 4)	0,89 ± 0,21 nM (n = 2)
38	-	1,25 ± 0,28 nM (n = 3)	-	0,99 ± 0,40 nM (n = 3)	0,05 nM
42	-	2,190 ± 1,510 nM (n = 2)	-	0,585 ± 0,175 nM (n = 2)	-
44	-	0,25 ± 0,12 nM (n = 3)	-	0,076 ± 0,074 nM (n = 2)	-
46	171,7 ± 25,0 nM (n = 2)	1,96 ± 1,0 nM (n = 3)	0,52 nM	0,44 ± 0,177 nM (n = 3)	0,17 nM
48	33,3 nM	-	0,50 nM	0,2 nM	-

Beispiel 19: 99m Tc-Radiomarkierung (allgemeines Verfahren)

[0163] 99m Tc-Komplexe können hergestellt werden, indem Folgendes in ein Stickstoffgereinigtes P46-Vial gegeben wird:

1 ml N₂ gereinigtes MeOH,
 100 µg des Liganden-MMPi-Konjugats in 100 µl MeOH,
 0,5 ml Na₂CO₃/NaHCO₃-Puffer (pH-Wert 9,2),
 0,5 ml TcO₄ aus dem Tc-Generator,
 0,1 ml SnCl₂/MDP-Lösung
 (Lösung, enthaltend 10,2 mg SnCl₂ und 101 mg Methylendiphosphonsäure in 100 ml N₂-gereinigter Salzlösung).

[0164] ITLC (Instant Thin Layer Chromatography) wird zur Bestimmung von RCP eingesetzt. SG-Platten und

eine mobile Phase von MeOH/(NH₄OAc 0,1 M) 1:1 zeigen RHT (reduziertes hydrolysiertes Tc) am Ursprung, Pertechnetat an der Lösungsmittelfront und Technetiumkomplexe bei einem dazwischenliegenden Rf-Wert.

Beispiel 20: Allgemeines Verfahren zur elektrophilen Radiojodierung von Vorläufern

[0165] Alle Vorläufer wurden dem folgenden Verfahren entsprechend markiert:

10 µL 0,1 mM Na¹²⁷I (in 0,01 M NaOH, 1 × 10⁻⁹ mol) wurden in ein Vial gegeben, welches 200 µL 0,2 M NH₄OAc-Puffer (pH-Wert 4) enthielt. Dieses Gemisch wurde in ein Vial gegeben, welches Na¹²³I (25,0 µL in 0,05 M NaOH, ca. 500 MBq) enthielt. Dann wurde die kombinierte Lösung zu einem silanisierten Kunststoffvial transferiert. 5 µL (2,5 × 10⁻⁸ mol) einer frisch hergestellten Peressigsäurelösung in Wasser (annähernd 5 mM) wurden dem Reaktionsvial hinzugefügt. Schließlich wurde der Vorläufer (34 µL einer 3-mM-Lösung in MeOH) in das Reaktionsvial gegeben, und man ließ die Lösung drei Minuten lang ruhen.

[0166] Die Reinigung der Verbindungen erfolgte mittels HPLC.

HPLC-Verfahren:

Lösungsmittel A:	0,1% TFA in Wasser
Lösungsmittel B:	0,1% TFA in MeCN
Säule:	Phenomenex Luna, 5 µm, C18 (2) 150 × 4,6 mm

Gradient:

Zeit	%B
0,0	30
20,0	70
20,20	100
23,20	100
23,70	30
30,0	30

Tabelle 2: HPLC-Retentionszeiten für die radiojodierten Verbindungen

Vorläufer	Produktnname	Retentionszeit (min)
Verbindung 23	Verbindung 24A	15,6
Verbindung 19	Verbindung 21A	7,6
Verbindung 20	Verbindung 20A	9,4
Verbindung 31	Verbindung 30A	9,1

Beispiel 21: Synthese der ¹⁸F-markierten Derivate: Verbindungen 46B und 48B

Schritt (a): 4-¹⁸F-Benzaldehyd

[0167] In ein Kohlenstoffglasreaktionsgefäß (4 ml) mit Flachboden wurden Kryptofix 222 (5 mg) in Acetonitril (800 µL) und Kaliumcarbonat [13,5 mg/ml (H₂O), ca. 0,1 m] (50 µL) gegeben. Das Gefäß wurde in einer Messingheizvorrichtung platziert, und der Deckel des Reaktionsgefäßes, versehen mit drei PTFE-Leitungen, wurde fest geschlossen. Leitung 1 wurde mit einem Zweiweg-Verzweiger ausgestattet, Leitung 2 wurde an ein Abfallvial angeschlossen, und Leitung 3 wurde verschlossen. Die Versuchsaufstellung wurde hinter einer Bleiwand platziert. Im Cyclotron-Target-Wasser enthaltenes ¹⁸F-Fluorid (370–740 MBq; 0,5–2 ml) wurde durch den Zweiweg-Verzweiger hinzugegeben. Die N₂-Leitung wurde an den Zweiweg-Verzweiger angeschlossen, und die Heizvorrichtung wurde auf 110°C eingestellt. 10 Minuten nach Beginn des Erhitzens wurde die N₂-Leitung entfernt, und ein Aliquot Acetonitril (0,5 ml) wurde hinzugefügt. Dieser Prozess wurde ca. 10,5 und 11 min nach Beginn des Erhitzens wiederholt. Im Anschluss an jede Zugabe von Acetonitril wurde die N₂-Leitung erneut an den Zweiweg-Verzweiger angeschlossen. Eine zweite Stickstoffleitung wurde an die abgekappte Leitung 3 angeschlossen, um jegliche in dieser Leitung vorhandene Flüssigkeit herauszuspülen. Das ¹⁸F-Fluorid wurde insgesamt bis zu 30 min lang getrocknet. Nach 30 min wurde die Heizvorrichtung mit komprimierter Luft heruntergekühlt, der Deckel des Reaktionsgefäßes wurde entfernt und 4-(Trimethylammonium)benzaldehydtrifluor-

methansulfonat [hergestellt durch das Verfahren von Poethko, u. a., J. Nucl. Med., 45 (5), S. 892–902 (2004); 0,5–0,8 mg; 0,0016–0,0026 mmol] in DMSO (1000 µl) wurden hinzugefügt. Die drei PTFE-Leitungen wurden mit Stöpseln abgekappt. Bei 90°C wurde das Reaktionsgefäß 15 min lang erhitzt, so dass sich 4-¹⁸F-Benzaldehyd ergab (typische Inkorporationsausbeute von ca. 50%). Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

Schritt (b): Konjugationsverfahren

[0168] Verbindung 45 (2 mg, 0,003 mmol) oder Verbindung 47 (4 mg, 0,002 mmol), gelöst in Zitronensäure/Na₂HPO₄-Puffer [500 µl; hergestellt durch Mischen von 809 µL einer 0,1 M wässrigen Zitronensäurelösung mit 110 µL einer 0,2 M wässrigen Lösung von wasserfreiem Na₂HPO₄] wurde direkt zum 4-¹⁸F-Benzaldehyd (roh) aus Schritt (a) gegeben. Das Reaktionsgefäß wurde bei 70°C/15 min erhitzt, so dass die rohe Verbindung 46B oder 48B entstand.

Schritt (c): Aufarbeitungsverfahren und Formulierung

[0169] Das gesamte Reaktionsgemisch aus Schritt (b) wurde mit Wasser auf ein Volumen von ca. 20 ml verdünnt und auf eine konditionierte t-C18-Sep-Pak gegeben [konditioniert mit DMSO (5 ml), gefolgt von Wasser (10 ml)]. Anschließend wurde die geladene t-C18-Sep-Pak mit Wasser (2 × 5 ml) und dann mit DMSO (3 × 5 ml) gespült. Die kombinierten DMSO-Spülungen, welche die gewünschten Produkte enthielten, wurden mittels des präparativen RP-HPLC-Systems gereinigt:

Säule	LunaC18 (2), 10 × 100 mm (5 u)
Eluent	Wasser (Pumpe A):Acetonitril (Pumpe
Schleifengröße	B)
Flussrate	2 ml
Wellenlänge	3 ml/min
	254 nm

[0170] Typische Retentionszeiten für Verbindung 46B oder 48B auf der präparativen Säule betragen jeweils 23 und 21 Minuten. Der separierte HPLC-Peak wurde mit Wasser auf ein Volumen von ca. 20 ml verdünnt und auf eine konditionierte t-C18-Sep-Pak gegeben [konditioniert mit Ethanol (5 ml), gefolgt von Wasser (10 ml)]. Anschließend wurde die geladene t-C18-Sep-Pak mit Wasser (1 × 5 ml) und dann mit Ethanol (3 × 0,2 ml, 1 × 0,4 ml) gespült. Die kombinierte Ethanolspülung, welche die gewünschten Produkte enthielt, wurde auf ein Volumen von ca. 0,1 ml verdampft und zu ca. 10% Ethanol mit Phosphat-gepufferter Salzlösung (PBS, 1 ml) formuliert. Der pH-Wert der formulierten Verbindungen belief sich auf etwa 7.

Beispiel 22: Plasma- und in vivo Stabilität des ¹²³I-radiojodierten Derivats der Verbindung 24 (Verbindung 24A)

[0171] Mit Verbindung 24A wurden Untersuchungen zur Plasma- und in vivo Stabilität durchgeführt, um die Stabilität und den Metabolismus der Verbindung zu bestimmen. Die in vivo Plasmastabilität bei Ratten erwies sich als gut, wobei sich RCP bei der Elternverbindung während zweistündiger Inkubation bei 37°C von 93% auf 80% veränderte.

[0172] In vivo Untersuchungen in Ratten zeigten sowohl eine leichte Instabilität als auch einen geringfügigen Metabolismus der Verbindung 24A im Verlauf der Zeit. Bedingt durch die nicht ausreichende Radioaktivität im Urin konnte die Analyse nur an Proben von Plasma und Galle vorgenommen werden. Eine zunehmende Menge freien Jodids wurde in Plasmaproben im Verlauf der Zeit beobachtet, aber es war nur eine geringe Menge der injizierten Gesamtkaktivität vorhanden. Ein Metabolit wurde in Plasmaproben und vier Metaboliten wurden in Gallenproben nachgewiesen, was das Auftreten von Metabolismus erkennen ließ.

Beispiel 23: Bioverteilung eines radiojodierten Derivats (Verbindung 24A) in einem LLC Tumormodell in vivo

[0173] 1 × 1,0⁶ Zellen eines Lewis-Lungenkarzinoms (LLC) wurden subkutan in den rechten Innenschenkel von C57BL/6-Mäusen injiziert. Die Tumoren ließ man 15 Tage lang wachsen, bevor die Untersuchung der Bioverteilung erfolgte. In diesem Modell traten Expressionslevels sowohl aktiver Gelatinasen (MMP-2) als auch Collagenasen auf (MMP-1 und 8) [Bae, u. a., Drugs Exp. Clin. Res., 29 (1): 15–23 (2003)].

Ergebnisse

[0174] Untersuchungen der Bioverteilung wurden im LLC-Tumormodell durchgeführt. Verbindung 24A wurde anfänglich sehr schnell aus dem Blut geclearnt und vor allem durch das Hepatobiliäre System (HBS) ausgeschieden. Innerhalb des Tumorgewebes wurde eine gewisse Retention beobachtet, bei geringer Aufnahme im Hintergrundgewebe. Eine Zusammenfassung der Ergebnisse ist nachstehend in Tabelle 3 aufgelistet:

Tabelle 3: Bioverteilung der ^{123}I -markierten Verbindungen in einem LLC-Tumormodell

Zeit nach der Injektion (in Minuten)								
	5		30		60		120	
	Mittel	STA	Mittel	STA	Mittel	STA	Mittel	STA
Verbindung 24A								
% ID ren. Aus.	7,17	0,36	6,89	1,44	5,5	2,19	7,22	0,86
% ID/g Tumor	0,6	0,18	0,56	0,12	0,48	0,06	0,6	0,07
Tumor/Blut	0,32	0,07	0,59	0,19	0,46	0,05	0,66	0,19
Tumor/Muskel	1,19	0,12	1,6	0,14	1,41	0,43	1,87	0,94
Tumor/Lunge	0,22	0,06	0,39	0,06	0,37	0,26	0,85	0,28
Tumor/Herz	0,27	0,04	0,57	0,12	0,68	0,07	1,23	0,26
Verbindung 44A								
% ID ren. Aus.	3,94	0,04	5,85	2,22	6,36	1,16	9,42	2,37
% ID/g Tumor	1,14	0,21	0,5	0,02	0,66	0,12	0,53	0,1
Tumor/Blut	0,41	0,15	0,38	0,13	0,42	0,12	0,43	0,06
Tumor/Muskel	1,91	1,24	1,57	0,14	2,3	0,16	2,8	0,71
Tumor/Lunge	0,49	0,16	0,54	0,11	0,69	0,16	0,72	0,16
Tumor/Herz	0,86	0,46	0,870	0,320	0,940	0,240	1,060	0,140
Verbindung 32A								
% ID ren. Aus.	9,82	4,99	35,20	4,08	54,06	7,63	64,10	7,29
% ID/g Tumor	2,58	0,27	2,67	0,43	2,03	0,37	1,34	0,25
Tumor/Blut	0,16	0,05	0,26	0,03	0,43	0,05	0,53	0,11
Tumor/Muskel	1,66	0,43	2,80	0,68	4,88	2,10	3,92	0,60

Tu-mor/Lun-ge	0,30	0,05	0,43	0,09	0,69	0,18	0,55	0,18
Tu-mor/Herz	0,48	0,15	0,75	0,15	1,31	0,15	1,54	0,37
Verbindung 38A								
% ID ren. Aus.	6,37	0,26	40,17	8,53	68,53	5,54	78,75	1,69
% ID/g Tumor	2,08	0,38	2,14	0,37	1,06	0,35	0,42	0,10
Tu-mor/Blut	0,13	0,03	0,30	0,01	0,45	0,08	0,52	0,15
Tu-mor/Muskel	1,22	0,18	2,19	0,27	2,27	0,58	1,82	0,52
Tu-mor/Lunge	0,33	0,09	0,73	0,09	0,83	0,12	0,64	0,18
Tu-mor/Herz	0,29	0,02	0,90	0,12	1,25	0,52	1,14-	0,15
Verbindung 42A								
% ID ren. Aus.	6,89	0,43	16,98	2,47	31,69	3,61	48,07	3,27
% ID/g Tumor	2,26	0,46	2,67	0,37	2,35	0,40	1,29	0,24
Tu-mor/Blut	0,26	0,04	0,54	0,07	0,66	0,02	0,56	0,05
Tu-mor/Muskel	1,46	0,22	3,22	0,09	3,52	0,54	2,51	0,87
Tu-mor/Lunge	0,26	0,05	0,57	0,03	0,74	0,08	0,60	0,04
Tu-mor/Herz	0,47	0,13	1,24	0,10	1,49	0,21	1,49	0,42
Verbindung 21A								
% ID ren. Aus.	5,62	1,75	26,73	3,14	39,99	3,28	52,08	3,70
% ID/g Tumor	1,64	0,29	2,20	0,32	1,97	0,16	1,60	0,14
Tu-mor/Blut	0,13	0,02	0,33	0,04	0,40	0,02	0,37	0,02
Tu-mor/Muskel	0,92	0,11	1,72	0,35	2,30	0,20	2,44	0,07
Tu-mor/Lunge	0,28	0,01	0,65	0,10	0,66	0,06	0,61	0,04
Tumor Herz	0,30	0,03	0,83	0,09	1,14	0,03	0,91	0,05
wobei: STA = Standardabweichung, ID = injizierte Dosis und ren. Aus. = renale Ausscheidung								

Beispiel 24: Bioverteilung ¹⁸F-markierter Derivate (Verbindungen 46B und 48B) in einem Tumormodell in vivo

[0175] Mit den Verbindungen 46B und 48B wurde die Untersuchung der Bioverteilung im LLC-Tumormodell aus Beispiel 23 durchgeführt. Nachstehend ist eine Zusammenfassung der Ergebnisse aufgeführt:

Tabelle 4: Bioverteilung ¹⁸F-markierter Verbindungen im LLC-Modell in vivo

Zeit nach der Injektion (in Minuten)								
	5		30		60		120	
	Mittel	STA	Mittel	STA	Mittel	STA	Mittel	STA
Verbindung 46B								
% ID ren. Aus.	6,60	4,24	12,00	4,17	15,02	3,11	19,68	4,54
% ID/g Tumor	0,42	0,17	0,53	0,21	0,32	0,26	0,31	0,21
Tumor/Blut	0,18	0,05	0,47	0,24	0,73	0,54	0,73	0,51
Tumor/Muskel	1,16	0,12	2,06	0,63	2,02	1,10	1,81	1,00
Tumor/Lunge	0,21	0,09	0,55	0,21	0,60	0,53	0,80	0,79
Tumor/Herz	0,37	0,11	1,15	0,33	1,54	1,12	1,33	1,02
Verbindung 48B								
% ID ren. Aus.	0,24	0,08	15,29	6,90	56,89	14,89	59,33	10,10
% ID/g Tumor	2,53	0,52	2,33	0,08	1,81	0,63	1,62	0,18
Tumor/Blut	0,11	1,45	0,24	0,02	0,51	0,33	0,41	0,49
Tumor/Muskel	1,55	1,45	2,92	0,79	4,40	5,59	3,55	1,25
Tumor/Lunge	0,26	0,18	0,47	0,10	0,95	0,93	0,77	0,44
Tumor/Herz	0,40	0,40	0,84	0,09	1,69	1,20	1,52	0,83
wobei: STA = Standardabweichung, ID = injizierte Dosis und ren. Aus. = renale Ausscheidung								

Beispiel 25: Bioverteilung ¹²³I- und ¹⁸F-markierter Verbindungen in einem Atherosklerosemodell in vivo

ApoE-Ligationsmodell

[0176] ApoE-/Mäuse sind transgene Knockout-Mäuse, denen das ApoE-Gen fehlt und die deshalb nicht zur Regulierung ihrer Cholesterinspiegel im Plasma in der Lage sind.

[0177] Infolgedessen entwickeln ApoE-Mäuse atherosklerotische Läsionen, ein Prozess, der durch die Fütterung mit stark fetthaltiger Nahrung beschleunigt wird. Eine weitere Beschleunigung der Läsionsentwicklung lässt sich durch Ligieren der Arteria carotis erreichen, was innerhalb von 4 Wochen nach Eingriff und Beginn

der Fütterung mit stark fetthaltiger Nahrung in einer fortgeschrittenen Läsionsbildung resultiert. Dieses Modell hat gezeigt, dass es Stufen der Gewebe-Remodellierung aufweist, mit hoher Makrophagen- und MMP-Expression, und es ist beschrieben von Ivan, u. a. [Circulation, 105, 2686–2691 (2002)].

[0178] Bezuglich dieser Versuche wurden zwei Kontrollen genutzt: (1) ApoE-Sham-Tiere, wobei die Mäuse dem gleichen chirurgischen Eingriff unterzogen werden, aber die Naht nur unterhalb der Arteria carotis verläuft und dann eine Entfernung erfolgt, und (2) C57BL/6-ligierte Tiere, welche die gleiche chirurgische Ligation durchlaufen und genauso stark fetthaltig gefüttert werden wie die ApoE-ligierten Mäuse. In Berichten aus der Literatur ist dargelegt, dass diese Tiere ein gewisses Maß an Gewebe-Remodellierung aufweisen, jedoch mit niedrigeren Levels für aktives MMP [Ivan, u. a., Circulation, 105, 2686–2691 (2002)].

[0179] Die Ergebnisse sind in Tabelle 5 aufgeführt:

Tabelle 5: Bioverteilung von ^{123}I - und ^{18}F -markierten Verbindungen im ApoE-Modell

	ApoE-ligiert				ApoE Sham		
Zeit nach der Injektion							
	5		60			60	
	Mittel	STA	Mittel	STA		Mittel	STA
Verbindung 24A							
% ID/G Carotis	2,67	1,11	2,00	0,83		0,25	0,28
Carotis/Blut	0,94	0,22	1,97	0,99		0,19	0,21
Carotis/Lunge	0,62	0,16	1,71	0,77		0,17	0,18
Carotis/Herz	0,48	0,12	1,03	0,72		0,21	0,2
Verbindung 32A							
% ID/G Carotis	10,32	2,51	10,85	2,21		2,91	1,08
Carotis/Blut	0,46	0,18	1,21	0,28		0,69	0,59
Carotis/Lunge	1,01	0,47	1,45	0,70		0,70	0,04
Carotis/Herz	1,39	0,67	3,94	0,92		1,28	0,49
Verbindung 46B							
% ID/G Carotis	0,88	0,31	0,44	0,13		-	-
Carotis/Blut	0,42	0,16	0,61	0,40		-	-
Carotis/Lunge	0,35	0,00	0,53	0,44		-	-
Carotis/Herz	0,49	0,04	1,11	0,83		-	-
Verbindung 48B							
% ID/G Carotis	12,01	4,33	10,34	1,19		2,37	0,51
Carotis/Blut	0,40	0,08	0,96	0,11		0,2	0,09
Carotis/Lunge	0,75	0,07	1,42	0,49		0,25	0,05
Carotis/Herz	1,27	0,29	2,71	0,24		0,81	0,19
wobei: STA = Standardabweichung und ID = injizierte Dosis							

Beispiel 26: Autoradiographie der Verbindungen 24A und 32A in einem Atherosklerosemodell in vivo

Kaninchen-Cholesterinmodell

[0180] Weiße Neuseeländer erhielten acht Wochen lang Nahrung mit 1% Cholesterin, um die Entwicklung einer atherosklerotischen Läsion in der Aorta herbeizuführen. Die Validierung dieses Modells hat die Entwicklung Makrophagen-reicher, fortgeschritten atherosklerotischer Läsionen gezeigt, ausgehend vom Aortabogen bis zur absteigenden Aorta. Kurz ausgedrückt, wurden die Verbindungen 24A und 32A den mit Cholesterin gefütterten Kaninchen i. v. injiziert, deren Einschläferung zwei Stunden p. i. erfolgte. Daraufhin wurden die Aorten vollständig entfernt und in 10% neutralem gepuffertem Formalin fixiert. Die Aorten wurden der Länge nach, entlang der ventralen Mittellinie, geöffnet und en face mit Sudan IV gefärbt, welches das Vorhandensein atherosklerotischer Läsionen mittels Fetteinfärbung nachweist. Über Nacht wurden die Aorten an einem Phosphorbridschirm platziert, der am folgenden Tag gescannt wurde, um die Bereiche der Radioaktivität innerhalb des Aortagewebes zu bestimmen.

[0181] Die Ergebnisse belegten eine Aufnahme beider Verbindungen in atherosklerotische Läsionen in der Aorta, bei minimaler Aufnahme in die normalen Aortabereiche.

Beispiel 27: Bildgebung in einem Tumormodell in vivo

[0182] Die Bildgebung wurde mit Verbindung 24A im MDA-MB-231-Tumormodell vorgenommen (humanes Brustkarzinom Xenograft-Modell). Aus den Belegen in der Literatur geht hervor, dass MDA-MB-231-Zellen eine Reihe von MMPs exprimieren, einschließlich MMP-1 (pro und aktiv) (Benbow, u. a.; Bacheimer, u. a.), MMP-2 (Bacheimer, u. a.; Lee, u. a.), MMP-3 (Bacheimer, u. a.), MMP-7 pro (Bacheimer, u. a.), MMP-9 pro (nicht aktiv) (Benbow, u. a.; Bacheimer, u. a.; Lee, u. a.; Weber, u. a.), MMP-10, 11 und 14 (alle pro) (Benbow, u. a.; Bacheimer, u. a.).

Bachmeier, u. a., Anticancer Res. 2001, Nov-Dec; 21 (6A): 3821-8;

Bae, u. a., Drugs Exp Clin Res. 2003; 29 (1): 15-23;

Benbow, u. a., Clin Exp Metastasis, Mai 1999; 17 (3): 231-8;

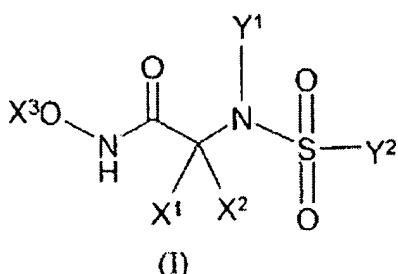
Lee, u. a., Eur. J Cancer, 2001; 37: 106-113;

Weber, u. a., Int. J Oncol., Feb. 2002, 20 (2): 299-303.

[0183] Tumor "Hotspots" wurden 5 bis 120 Minuten post Injektion erkennbar, wobei das Verhältnis zwischen maßgeblichen Bereichen und Muskel jederzeit größer war als 2:1. Die Ergebnisse sind in [Fig. 3](#) aufgeführt.

Patentansprüche

1. Bildungsmittel, umfassend einen Metalloproteinase-Inhibitor der Formel (I), markiert mit einer Bildgebungseinheit, wobei die Bildgebungseinheit detektiert werden kann nach der Verabreichung des markierten Matrix-Metalloproteinase-Inhibitors an einen Körper eines Säugers in vivo:



wobei:

Y¹ steht für H oder -(CH₂)_w-(C=O)-Z; wobei w eine ganze Zahl des Wertes 1 bis 6 ist; und Z steht für OH, C₁₋₆-Alkoxy, C₄₋₁₀-Aryloxy oder NR¹R², wobei R¹ und R² jeweils unabhängig ausgewählt sind aus der Gruppe, die besteht aus H, C₁₋₆-Alkyl, C₃₋₆-Cycloalkyl, C₁₋₆-Fluoroalkyl oder C₄₋₁₀-Aryl.

X¹ und X² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, einen gesättigten C₃₋₁₀-Ring bilden, der alicyclisch oder bicyclisch sein kann, und ggf. ein oder zwei Heteroatome eingebaut haben, ausgewählt aus O, N und S;

X³ steht für H, C₁₋₃-Alkyl oder C₁₋₃-Fluoroalkyl;

Y² steht für eine Gruppe der Formel -[A¹]_p[O]_qA², wobei p und q für 0 oder 1 stehen, und A¹ steht für C₁₋₁₀-Alkyl, C₃₋₈-Cycloalkylen, C₁₋₁₀-Perfluoralkylen, C₆₋₁₀-Arylen oder C₂₋₁₀-Heteroarylen, und A² steht für H, C₁₋₁₀-Alkyl,

C_{3-8} -Cycloalkyl, C_{1-10} -Perfluoralkyl, C_{6-10} -Aryl oder C_{2-10} -Heteroaryl, mit der Maßgabe, dass wenn $p = 0$, q auch für 0 steht und A^2 nicht für H steht.

2. Bildgebungsmittel nach Anspruch 1, wobei Y^1 steht für $-(CH_2)_w-(C=O)-Z$ und w steht für 1, 2 oder 3.

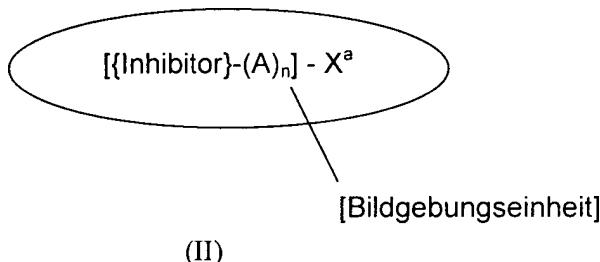
3. Bildgebungsmittel nach Anspruch 1 oder 2, wobei X^1 steht für H, CH_3 oder CH_2F .

4. Bildgebungsmittel nach den Ansprüchen 1 bis 3, wobei Y^2 steht für $-C_6H_4-O-A^2$, und A^2 steht für C_{6-10} -Aryl.

5. Bildgebungsmittel der Ansprüche 1 bis 4, wobei die Bildgebungseinheit ausgewählt ist aus:

- (i) einem radioaktiven Metallion;
- (ii) einem paramagnetischen Metallion;
- (iii) einem Gamma-emittierenden radioaktiven Halogen,
- (iv) einem Positron-emittierenden radioaktiven Nicht-Metall;
- (v) einem hyperpolarisierten NMR-aktiven Kern;
- (vi) einem Reporter, der für eine optische in-vivo-Bildgebung geeignet ist;
- (vii) einem β -Emitter, der für intravaskuläre Detektion geeignet ist.

6. Bildgebungsmittel nach Anspruch 1 bis 5, wobei das Bildgebungsmittel von der Formel II ist:



wobei:

{Inhibitor} der Metalloproteinase-Inhibitor der Formel (I) ist;

$-(A)_n$ - eine Linkergruppe ist, wobei jedes A unabhängig steht für $-CR_2-$, $-CR=CR-$, $-C=C-$, $-CR_2CO_2-$, $-CO_2CR_2-$, $-NRCO-$, $-CONR-$, $NR(C=O)NR-$, $-NR(C=S)NR-$, $-SO_2NR-$, $-NRSO_2-$, $-CR_2OCR_2-$, $-CR_2SCR_2-$, $-CR_2NRCR_2-$, eine C_{4-8} -Cycloheteroalkylen-Gruppe, eine C_{4-8} -Cycloalkylen-Gruppe, eine C_{5-12} -Arylen-Gruppe, oder eine C_{3-12} -Heteroaryl-Gruppe, eine Aminosäure, einen Zucker oder einen monodispersen Polyethylenglycol(PEG)-Bildungsblock;

R unabhängig ausgewählt ist aus H, C_{1-4} -Alkyl, C_{2-4} -Alkenyl, C_{2-4} -Alkinyl, C_{1-4} -Alkoxyalkyl oder C_{1-4} -Hydroxyalkyl;

n eine ganze Zahl des Wertes 0 bis 10 ist; und

X^3 steht für H, OH, Hal, NH_2 , C_{1-4} -Alkyl, C_{1-4} -Alkoxy, C_{1-4} -Alkoxyalkyl, C_{1-4} -Hydroxyalkyl oder X^3 die Bildgebungseinheit ist.

7. Bildgebungsmittel nach Anspruch 6, wobei die Bildgebungseinheit gebunden ist an die Y^1 - oder Y^2 -Positionen des Metalloproteinase-Inhibitors.

8. Bildgebungsmittel nach Anspruch 1 bis 7, wobei der Matrix-Metalloproteinase-Inhibitor konjugiert ist an einen Liganden, und der Ligand einen Metallkomplex mit dem radioaktiven Metallion oder paramagnetischen Metallion bildet.

9. Bildgebungsmittel nach Anspruch 8, wobei der Ligand ein Chelatbildner ist.

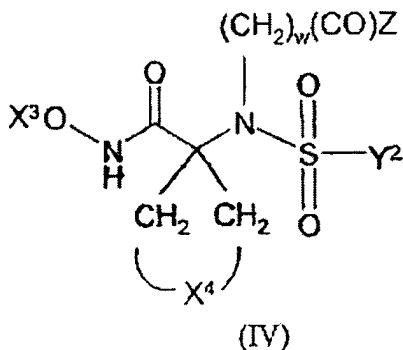
10. Bildgebungsmittel nach Anspruch 8 oder 9, wobei das radioaktive Metallion ein Gamma-Emitter oder ein Positron-Emitter ist.

11. Bildgebungsmittel nach Anspruch 10, wobei das radioaktive Metallion steht für ^{99m}Tc , ^{111}In , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{67}Ga oder ^{68}Ga .

12. Bildgebungsmittel nach Anspruch 10, wobei die Gamma-emittierende radioaktive Halogen-Bildgebungseinheit für ^{123}I steht.

13. Bildgebungsmittel nach Anspruch 10, wobei das Positron-emittierende radioaktive Nicht-Metall ausgewählt ist aus ^{18}F , ^{11}C oder ^{13}N .

14. Bildgebungsmittel nach den Ansprüchen 1 bis 13, wobei der Matrix-Metalloproteinase-Inhibitor von der Formel IV ist:



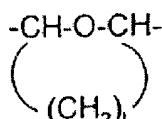
wobei:

Y^2 , w und Z sind wie definiert in Anspruch 1;

X^3 steht für H , CH_3 oder CH_2F ;

X^4 steht für $-(\text{CH}_2)_m-$, wobei m steht für 1, 2 oder 3, $-\text{CH}_2\text{OCH}_2-$ oder X^5 , wobei

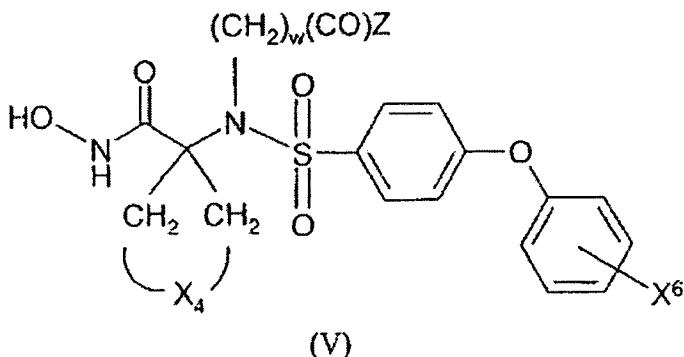
X^5 steht für



wobei t für 2 oder 3 steht.

15. Bildgebungsmittel nach Anspruch 14, wobei Z für NR^1R^2 steht.

16. Bildgebungsmittel nach Anspruch 14 oder 15, wobei der Matrix-Metalloproteinase-Inhibitor von der Formel V ist:



wobei:

X^6 für Hal steht, R^1 oder OR^1 , wobei R^1 für C_{1-3} -Alkyl oder C_{1-3} -Fluoroalkyl steht.

17. Bildgebungsmittel nach Anspruch 16, wobei Z für NR^1R^2 steht, X^6 für F steht; und X^4 für $-(\text{CH}_2)_2-$, $-\text{CH}_2\text{OCH}_2-$ oder X^5 steht, mit t gleich 2.

18. Pharmazeutische Zusammensetzung, umfassend das Bildgebungsmittel der Ansprüche 1 bis 17 zusammen mit einem biokompatiblen Träger, in einer Form, die für die Verabreichung an einen Säuger geeignet ist.

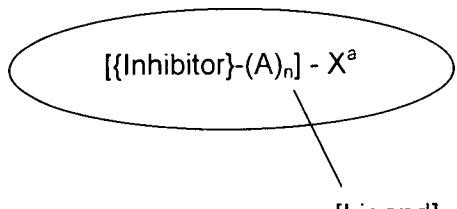
19. Radiopharmazeutische Zusammensetzung, umfassend das Bildgebungsmittel der Ansprüche 1 bis 17, wobei die Bildgebungseinheit radioaktiv ist, zusammen mit einem biokompatiblen Träger, in einer Form, die für die Verabreichung an einen Säuger geeignet ist.

20. Radiopharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 19, wobei die Bildgebungseinheit ein radioaktives Metallion umfasst.

21. Radiopharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 19, wobei die Bildgebungseinheit ein Positron-emittierendes radioaktives Nicht-Metall oder ein Gamma-emittierendes radioaktives Halogen umfasst.

22. Konjugat eines Matrix-Metalloproteinase-Inhibitors der Formel (I), wie definiert in Anspruch 1, mit einem Liganden, wobei der Ligand fähig ist, einen Metallkomplex mit einem radioaktiven oder paramagnetischen Metallion zu bilden.

23. Konjugat nach Anspruch 20 der Formel IIb:



(IIb)

wobei {Inhibitor}, A, n und X^a sind wie definiert in Anspruch 6.

24. Konjugat nach Anspruch 22 oder 23, wobei der Matrix-Metalloproteinase-Inhibitor von der Formel IV oder V der Ansprüche 14 bis 17 ist.

25. Konjugat nach den Ansprüchen 22 bis 24, wobei der Ligand ein Chelatbildner ist.

26. Konjugat nach Anspruch 25, wobei der Chelatbildner einen Diamindioxim-, N₂S₂- oder N₃S-Donorsatz aufweist.

27. Kit für die Herstellung der radiopharmazeutischen Zusammensetzung nach Anspruch 20, umfassend das Konjugat der Ansprüche 22 bis 26.

28. Kit nach Anspruch 30, wobei das radioaktive Metallion steht für ^{99m}Tc, und das Kit weiter umfasst ein biokompatibles Reduktionsmittel.

29. Kit zur Herstellung der radiopharmazeutischen Zusammensetzung nach Anspruch 21, umfassend einen Vorläufer, wobei der Vorläufer ein nichtradioaktives Derivat des Matrix-Metalloproteinase-Inhibitors der Ansprüche 1 bis 17 ist, wobei das nicht-radioaktive Derivat fähig ist zur Reaktion mit einer Quelle des Positron-emittierenden radioaktiven Nicht-Metalls oder Gamma-emittierenden radioaktiven Halogens, um das erwünschte Radiopharmazeutikum zu ergeben.

30. Kit nach Anspruch 29, wobei der Vorläufer in steriler, apyogener Form vorliegt.

31. Kit nach Anspruch 29 oder 30, wobei die Quelle des Positron-emittierenden radioaktiven Nicht-Metalls oder Gamma-emittierenden radioaktiven Halogens ausgewählt ist aus:

- (i) Halogenidion oder F⁻ oder I⁻; oder
- (ii) ein Alkylierungsmittel, ausgewählt aus einem Alkyl- oder Fluoroalkyl-Halogenid, -Tosylat, -Triflat oder -Mesitylat.

32. Kit nach den Ansprüchen 29 bis 31, wobei das nicht-radioaktive Derivat ausgewählt ist aus:

- (i) einem organometallischen Derivat, wie ein Trialkylstannan oder ein Trialkylsilan;
- (ii) einem Derivat enthaltend ein Alkylhalogenid, Alkyltosylat oder Alkylmesylat für nukleophile Substitution;
- (iii) einem Derivat, enthaltend einen aromatischen Ring, der in Richtung nukleophiler oder elektrophiler Substitution aktiviert ist;
- (iv) einem Derivat, enthaltend eine funktionelle Gruppe, die eine leichte Alkylierung durchläuft;
- (v) einem Derivat, das Thiol-enthaltende Verbindungen alkyliert, um ein Thioether-enthaltendes Produkt zu ergeben.

33. Kit nach den Ansprüchen 29 bis 32, wobei der Vorläufer an eine feste Phase gebunden ist.

34. Verwendung des Bildgebungsmittels der Ansprüche 1 bis 17 für die diagnostische Bildgebung von Atherosklerose.

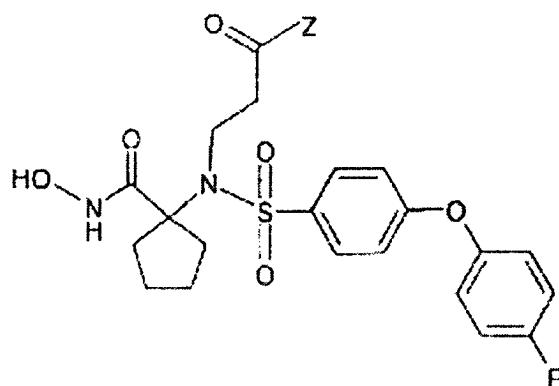
35. Verwendung des Bildgebungsmittels der Ansprüche 1 bis 17 für die diagnostische Bildgebung instabiler Plaques.

36. Verwendung des Bildgebungsmittels der Ansprüche 1 bis 17 für die intravaskuläre Detektion von Atherosklerose.

Es folgen 5 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

Figur 1



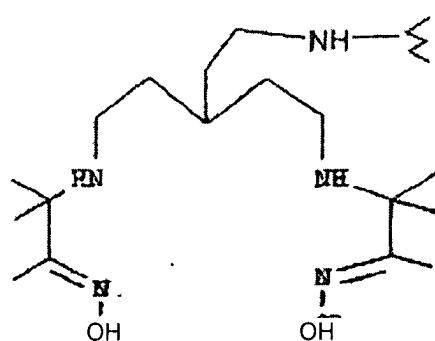
Verbindung	Z
1.	-OH [Stand der Technik]
2.	-NH-[Chelator 1]
3.	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₃ (CH ₂) ₂ NH(CO)CH ₂ OCH ₂ CO-NH-[Chelator 1]
4.	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₃ (CH ₂) ₂ NH ₂
5.	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₃ (CH ₂) ₂ NH(CO)CH ₂ Cl
6.	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₃ (CH ₂) ₂ NH(CO)CH ₂ S(CH ₂) ₃ F
7.	-NH-Lys(CO)NH-(CH ₂ CH ₂ O) ₃ (CH ₂) ₂ NH(CO)CH ₂ OCH ₂ CO-NH-Lys-[ε-chloracetyl]-NH ₂
8.	-NH-Glu-NH ₂
9.	-NH-Lys-NH ₂
10.	-NH-Leu-NH ₂
11.	-NH-Lys-Glu-NH ₂
12.	-NH-Glu-Glu-NH ₂
13.	-NH-Leu-Glu-NH ₂
14.	-NH-Lys-Lys-NH ₂
15.	-NH-Gly-Lys-NH ₂
16.	-NH-Glu-Lys-NH ₂
17.	-NH-Leu-Lys-NH ₂
18.	-NH-Gly-Glu-NH ₂
19.	-NH-(Glu) ₅ -Tyr-NH ₂
20.	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₃ (CH ₂) ₂ NH(CO)CH ₂ OCH ₂ CO-NH-Tyr(3-iod)-NH ₂
20A.	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₃ (CH ₂) ₂ NH(CO)CH ₂ OCH ₂ CO-NH-Tyr(3- ¹²³ I)-NH ₂
21.	-NH-(Glu) ₅ -Tyr(3-iod)-NH ₂

21A.	-NH-(Glu) ₅ -Tyr(3- ¹²³ I)-NH ₂
22.	O-C ₆ F ₅
23.	-NH(CH ₂) ₂ -[C ₆ H ₄ -4-OH]
24.	-NH(CH ₂) ₂ -[C ₆ H ₃ -3-I-4-OH]
24A.	-NH(CH ₂) ₂ -[C ₆ H ₃ -3- ¹²³ I-4-OH]
25.	-NH-C ₆ H ₄ -4-SnBu ₃
26.	-NH-C ₆ H ₄ -4-I
30.	-Lys-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₃ (CH ₂) ₂ NH(CO)CH ₂ OCH ₂ CO-NH-Tyr(3-iod)-NH ₂
30A.	-Lys-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₃ (CH ₂) ₂ NH(CO)CH ₂ OCH ₂ CO-NH-Tyr(3- ¹²³ I)-NH ₂
31.	-Lys-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₃ (CH ₂) ₂ NH(CO)CH ₂ OCH ₂ CO-NH-Tyr-NH ₂
32.	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₁₁ CH ₂ CH ₂ CONH(CH ₂ CH ₂ O) ₁₁ CH ₂ CH ₂ -CONH-Tyr(3-iod)-NH ₂
32A.	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₁₁ CH ₂ CH ₂ CONH(CH ₂ CH ₂ O) ₁₁ CH ₂ CH ₂ -CONH-Tyr(3- ¹²³ I)-NH ₂
33.	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₃ (CH ₂) ₂ NH(CO)CH ₂ OCH ₂ CO-NH-Tyr-NH ₂
34.	-Glu-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₃ (CH ₂) ₂ NH(CO)CH ₂ OCH ₂ CO-NH-Tyr-NH ₂
35.	-Glu-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₃ (CH ₂) ₂ NH(CO)CH ₂ OCH ₂ CO-NH-Tyr(3-iod)-NH ₂
36.	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₁₁ CH ₂ CH ₂ CONH(CH ₂ CH ₂ O) ₁₁ CH ₂ CH ₂ -CONH-Tyr-NH ₂
37.	-(Glu) ₅ -NH(CH ₂ CH ₂ O) ₃ (CH ₂) ₂ NH(CO)CH ₂ OCH ₂ CO-NH-Tyr-NH ₂
38.	-(Glu) ₅ -NH(CH ₂ CH ₂ O) ₃ (CH ₂) ₂ NH(CO)CH ₂ OCH ₂ CO-NH-Tyr(3-iod)-NH ₂
39.	-NH-Tyr-NH ₂
40.	-NH-Tyr(3-iod)-NH ₂
41.	-(Lys) ₅ -NH(CH ₂ CH ₂ O) ₃ (CH ₂) ₂ NH(CO)CH ₂ OCH ₂ CO-NH-Tyr-NH ₂
42.	-(Lys) ₅ -NH(CH ₂ CH ₂ O) ₃ (CH ₂) ₂ NH(CO)CH ₂ OCH ₂ CO-NH-Tyr(3-iod)-NH ₂

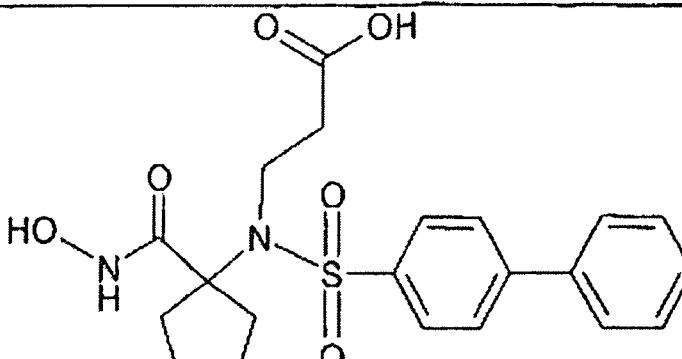
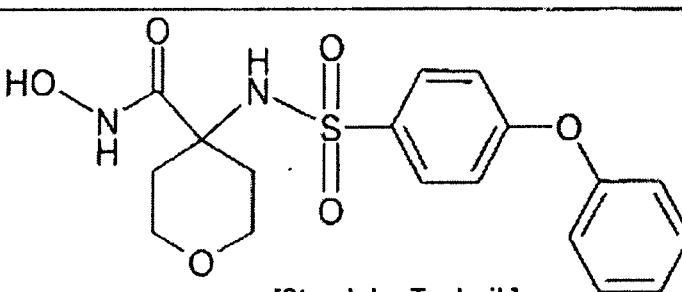
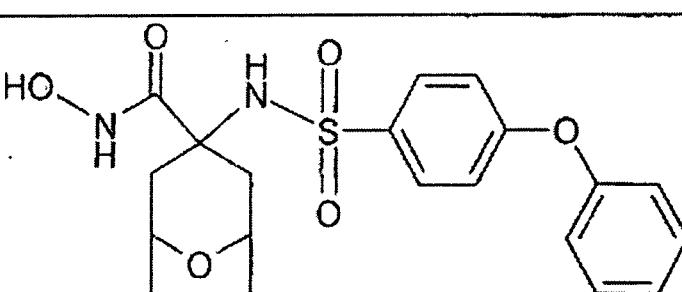
43.	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₁₁ CH ₂ CH ₂ -CONH-Tyr-NH ₂
44.	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₁₁ CH ₂ CH ₂ -CONH-Tyr(3-iodo)-NH ₂
45.	-(Lys- α -NH ₂) ϵ -COCH ₂ O-NH ₂
46.	-(Lys- α -NH ₂) ϵ -COCH ₂ O-N=CH-(4-F-phenyl)
46B.	-(Lys- α -NH ₂) ϵ -COCH ₂ O-N=CH-(4- ¹⁸ F-phenyl)
47.	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₁₁ CH ₂ CH ₂ CONH(CH ₂ CH ₂ O) ₁₁ CH ₂ CH ₂ -CONH-(Lys- α -NH ₂ - ϵ -COCH ₂ O-NH ₂)
48.	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₁₁ CH ₂ CH ₂ CONH(CH ₂ CH ₂ O) ₁₁ CH ₂ CH ₂ -CONH-(Lys- α -NH ₂ - ϵ -COCH ₂ O-N=CH-(4-F-phenyl))
48B.	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₁₁ CH ₂ CH ₂ CONH(CH ₂ CH ₂ O) ₁₁ CH ₂ CH ₂ -CONH-(Lys- α -NH ₂ - ϵ -COCH ₂ O-N=CH-(4- ¹⁸ F-phenyl))

Beachte: Die Abkürzung [Aminosäure]-NH₂ verweist auf eine terminale -CONH₂-Amidgruppe am Aminosäure-Carboxyl-Terminus

Dabei ist Chelator 1:



Figur 2

Verbindung	Struktur
27.	 <p>[Stand der Technik]</p>
28.	 <p>[Stand der Technik]</p>
29.	 <p>[Stand der Technik]</p>

Figur 3: *In Vivo* Bilder

