

Brevet N° **85042**
 du **12 octobre 1983**
 Titre délivré : **- 2 AVR. 1984**

GRAND-DUCHÉ DE LUXEMBOURG



Monsieur le Ministre
 de l'Économie et des Classes Moyennes
 Service de la Propriété Intellectuelle
 LUXEMBOURG

Demande de Brevet d'Invention

I. Requête

Hahnemann University, 230 N. Broad Street, Philadelphia, PA 19102, USA, représentée par Monsieur Jean Waxweiler, 21-25 (1)

Allée Scheffer, Luxembourg, agissant en qualité de mandataire (2)

dépose(nt) ce **douze octobre mil neuf cent quatre-vingt-trois** (3)
 à **15,00** heures, au Ministère de l'Économie et des Classes Moyennes, à Luxembourg :

1. la présente requête pour l'obtention d'un brevet d'invention concernant :
Verfahren zur Abbildung des Myokard von Säugetieren (4)

2. la délégation de pouvoir, datée de le
 3. la description en langue **allemande** de l'invention en deux exemplaires;
 4. / planches de dessin, en deux exemplaires;
 5. la quittance des taxes versées au Bureau de l'Enregistrement à Luxembourg,
 le **douze octobre mil neuf cent quatre-vingt-trois**

déclare(nt) en assumant la responsabilité de cette déclaration, que l'(es) inventeur(s) est (sont) :
David V. Woo, 119 Helmsway, Downingtown, Pennsylvania 19335, USA (5)

revendique(nt) pour la susdite demande de brevet la priorité d'une (des) demande(s) de
 (6) **brevet d'invention** déposée(s) en (7) **Etats-Unis d'Amérique**
 le **13 octobre 1982 sous le No. 433,871** (8)

au nom de **David V. Woo** (9)

élit(élisent) pour lui (elle) et, si désigné, pour son mandataire, à Luxembourg
Jean Waxweiler, 21-25 Allée Scheffer, Luxembourg (10)

sollicite(nt) la délivrance d'un brevet d'invention pour l'objet décrit et représenté dans les
 annexes susmentionnées, — avec ajournement de cette délivrance à mois. (11)

Le **mandataire**

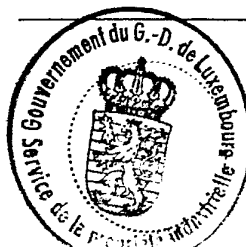
[Signature]

II. Procès-verbal de Dépôt

La susdite demande de brevet d'invention a été déposée au Ministère de l'Économie et des Classes Moyennes, Service de la Propriété Intellectuelle à Luxembourg, en date du :

12.10.1983

à **15,00** heures



Pr. le Ministre
 de l'Économie et des Classes Moyennes,
 p. d.

PRIORITÄTS-BEANSPRUCHUNG

L- 2839

der Patent-Anmeldung

in den Vereinigten Staaten von Amerika

vom 13. Oktober 1982 unter Nr. 433,871

B E S C H R E I B U N G

ZU EINER PATENTANMELDUNG

IM

GROSSHERZOGTUM LUXEMBURG

Hahnemann University

Verfahren zur Abbildung des Myokard
von Säugetieren

1 Verfahren zur Abbildung des
 Myokard von Säugetieren

5 Radiomarkierte Myokardabbildungsmittel sind seit mehreren
Jahren bekannt, doch die diagnostische Verwendung solcher
Mittel wurde stark durch die Tatsache eingeschränkt, daß
andere Gewebe oder Fasern in der Nachbarschaft des Myokard
derartige Mengen solcher Mittel aufnehmen, daß die Abbildung
10 des Myokard mit Hilfe von Radioaktivität gestört wurde. Die
hauptsächlichen störenden Gewebe und Körperflüssigkeiten
sind das Blut, die Lunge und die Leber.

Die vorliegende Erfindung betrifft allgemein ein Verfahren
15 zur Abbildung des Myokard von Säugetieren mit Hilfe von Ra-
dioaktivität, indem man zunächst ein radioaktiv markiertes
bzw. radiomarkiertes lipophiles Kation bevorzugt in den Myo-
kardfasern konzentriert und sodann unter Verwendung bekann-
ter Techniken mit Hilfe der Radioaktivität eine Abbildung
20 erzeugt.

Bei der Durchführung der Stufe der bevorzugten Konzentrie-
rung eines solchen radiomarkierten Kations in Myokardfasern
wurde gefunden, daß es eine Klasse von Mitteln gibt, die
25 in der Lage sind, dies zu erreichen, und diese Klasse umfaßt
breit gesprochen radiomarkierte lipophile Kationen quaternä-
rer Ammoniumverbindungen, quaternärer Phosphoniumverbindun-
gen oder quaternärer Arsoniumverbindungen mit wenigstens
zwei Arylresten.

30
Es wurde eine Klasse von Substanzen gefunden, die in der
Tat eine überraschende Bevorzugung für die Myokardfasern
zeigt, wenn man sie intravenös Säugetieren injiziert. Tat-
sächlich ist die Myokardbevorzugung dieser Substanzen aus-
35 reichend groß, um eine hohe Myokardkonzentration an Radioak-
tivität und gleichermaßen genügend große Verhältnisse von
Radioaktivität im Myokard zu Radioaktivität in den Nicht-
zielbereichen zu erhalten, um eine wesentlich bessere diag-

1 nostische Abbildung des Myokard zu erzielen.

Radiomarkierte quaternäre Ammoniumverbindungen, quaternäre Phosphoniumverbindungen oder quaternäre Arsoniumverbindungen
5 werden intravenös injiziert, wie nachfolgend beschrieben ist. Dies führt zur bevorzugten Aufnahme eines radiomarkierten Kations in dem Myokard, wie oben beschrieben wurde. Sodann erfolgt eine Abbildung des Myokard mit Hilfe der Radioaktivität.

10

Die Klasse von Verbindungen mit der erwünschten Myokardbevorzugung besteht aus quaternären Ammoniumhalogeniden, quaternären Phosphoniumhalogeniden und quaternären Arsoniumhalogeniden mit wenigstens zwei Arylresten aus der Klasse der
15 Phenyl- und Benzylreste. Beispiele solcher Verbindungen sind:

Tetraphenylammoniumbromid,
Tetrabenzylammoniumbromid,
20 Tetraphenylphosphoniumbromid,
Tetrabenzylphosphoniumbromid,
Tetraphenylarsoniumbromid,
Diphenyldimethylammoniumbromid,
Phenylbenzyldimethylammoniumbromid,
25 Dibenzyldimethylammoniumbromid,
Diphenyldimethylphosphoniumbromid,
Phenylbenzyldimethylphosphoniumbromid und
Dibenzyldimethylphosphoniumbromid.

30 In der obigen Liste quaternärer Verbindungen können die Methylgruppen durch Äthyl- und/oder Propylgruppen ersetzt sein, und das Brom kann durch andere Halogenide, wie Jod oder Chlor, ersetzt sein.

35 Um den obigen quaternären Verbindungen Abbildungseigenschaften durch Radioaktivität zu verleihen und so Materialien zu erzeugen, die bei der Durchführung der vorliegenden Erfindung verwendet werden können, werden radioaktive Markie-

1 rungen in bekannter Weise auf einer oder auf mehreren der
Arylreste fixiert. Solche Markierungen können aus den fol-
genden Elementen ausgewählt werden: I^{123} , I^{125} , I^{131} , Br^{77} ,
 Br^{82} und F^{18} .

5

Die Anwendung von radioaktivem Jod zur Markierung organi-
scher Verbindungen für die Verwendung in der diagnostischen
Nuclearmedizin ist gut dokumentiert. Andere radioaktive Che-
mikalien wurden ebenfalls verwendet. Speziell für die ge-
10 werbliche Verwendung bei der Herzabbildung wurde radioakti-
ves Thallium fast ausschließlich verwendet. Die Verwendung
von Thallium wurde von E. Lebowitz et al in J. Nucl. Med.
16:2, Seite 151 (1975) beschrieben. Die Verwendung von Thal-
lium ist jedoch teuer. Es führt auch zu einer mäßigen Ab-
15 bildbarkeit und zu einer schlechten Interpretierbarkeit.
Dies beruht auf mehreren Unzulänglichkeiten von Thallium,
wie auf den geringen Gammaemissionen von Thallium.

Daher bestand ein wachsendes Interesse an der Auffindung
20 von Verbindungen, die zu Abbildungen mit höherer Qualität
führen. Es sind auch neue markierte Verbindungen gefragt,
die sich in dem Herzen in Bezug auf die Nachbarorgane und
Körperflüssigkeiten, wie Blut, Lungen und Leber, gut lokali-
sieren lassen, da letztere sonst die Abbildung des Herzens
25 stören oder verhindern würden. Schließlich wird eine neue
Verbindung gesucht, die vom Herzen stärker aufgenommen wird
als Thallium und daher ein stärkeres, klareres Bild ergibt.

Es gibt eine Gruppe von Verbindungen, die als radiomarkierte
30 lipophile Kationen bezeichnet werden. Diese Verbindungen
wurden in großem Umfang verwendet, um den aktiven Transport
bei verschiedenen Bakterien und Säugetierzellsystemen zu
studieren.

35 Radiomarkierte lipophile Kationen wurden aber nicht als
Herzabbildungsmittel verwendet, sondern als eine biochemi-
sche Methode zur Bewertung des Zustandes des Transmembranpo-
tentials aufgrund ihrer Fähigkeit, in den hydrophoben Kern

1 der Membran einzudringen. Diese Ionen haben eine einzigartige
Neigung zur Ladungsdezentralisierung, was eine passive
Äquilibrierung mit dem elektrischen Potential über die ganze
Membran ermöglicht. Zuerst eingeführt von Skulachev, Curr.
5 Top. Bioenerg. 4, Seiten 127 bis 190 (1971) wurde diese Me-
thode umfangreich in zahlreichen biologischen Systemen ver-
wendet, wie von Kamo et al in J. Memb. Biol. 49, Seiten 105
bis 121 (1979), von Hirata et al in Proc. Natl. Acad. Sci.
USA 70, Seiten 1804 bis 1808 (1973) und von Lichtshtein et
10 al in Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76, Seiten 650 bis 654
(1979) beschrieben wurde.

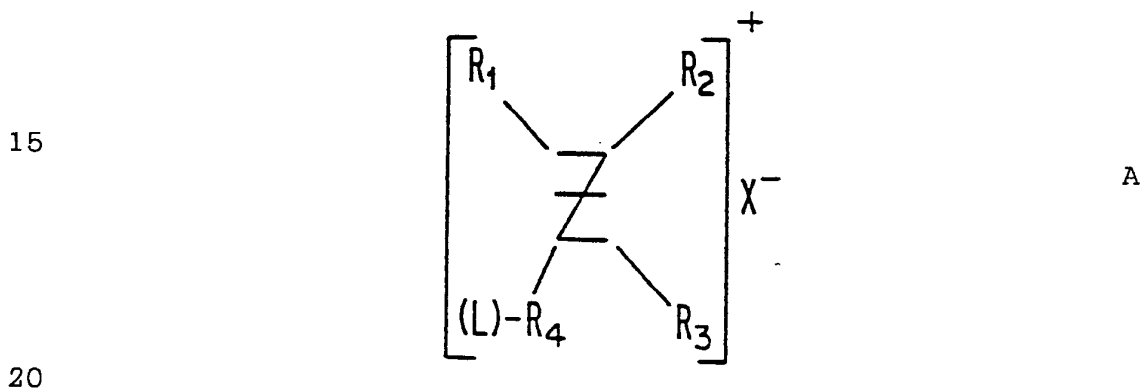
Es besteht die Theorie, daß, wenn die radiomarkierten lipophil-
en Kationen quaternärer Ammoniumverbindungen, quaternärer
15 Phosphoniumverbindungen und quaternärer Arsoniumverbindungen
wenigstens zwei Arylreste haben, die Ladung der Kationen
genügend dezentralisiert wird, um eine Lokalisierung des
Kations in dem Myokard gemäß dem relativ hohen negativen
Nettopotential, das bekanntermaßen in den Myokardmembranen
20 vorliegt, zu ermöglichen.

Die Verbindungen nach der Erfindung sind von jeglichen bio-
chemischen Markierungssubstanzen, die für die Myokardabbil-
dung verwendet wurden, chemisch unterschieden. Diese Verbin-
25 dungen ergeben eine hohe Myokardkonzentration der Radioakti-
vität und günstige Verhältnisse von Myokardkonzentration
zu Blut-, Leber- und Lungenkonzentrationen. Außerdem ist
die Myokardkonzentration der Radioaktivität offenbar kon-
stant mit der Zeit, während andere größere Organe abnehmende
30 Radioaktivitätswerte zeigen, was zu noch größeren Konzentra-
tionsverhältnissen von Zielbereich zu Nichtzielbereich
führt.

Counsell et al beschreiben in J. Nucl. Med. 15:11, Seiten
35 991 bis 996 (1974) Studien an Tieren unter Verwendung von
radiojodierten Bretylliumanalogen für die Myokardabtastung.
Diese Verbindungen enthalten nur einen Arylrest. Folglich
fand man, daß die Myokardkonzentration der Radioaktivität

1 in Bezug auf die Nichtzielgewebekonzentration der Radioakti-
 vität wesentlich geringer als bei Thallium im Verhältnis
 Herz/Blut und im Vergleich zu Thallium in den Verhältnissen
 von Herz/Lunge und Herz/Leber war. Außerdem ist die Gesamt-
 5 myokardaufnahme an Radioaktivität viel geringer als jene,
 die nach der vorliegenden Erfindung erzielt wird.

Die Erfindung ist auf radiomarkierte lipophile Kationen von
 quaternären Ammoniumverbindungen, quaternären Phosphonium-
 10 verbindungen und quaternären Arsoniumverbindungen der allge-
 meinen Formel



worin R_1 und R_2 gleich oder verschieden sind und Alkylgrup-
 pen oder Arylreste bedeuten, R_3 und R_4 gleich oder verschie-
 den sind und Phenyl- oder Benzylreste bedeuten, X Br^- , I^-
 oder Cl^- bedeutet, L gammaemittierendes ^{123}I , ^{125}I , ^{131}I ,
 25 ^{77}Br , ^{82}Br oder ^{18}F und Z Stickstoff, Phosphor oder Arsen
 ist, gerichtet.

Die radiomarkierten lipophilen Kationen der Formel A zeigen
 eine ausgeprägte Überlegenheit hinsichtlich der Ladungsde-
 30 zentralisierung (oder -delokalisierung) im Vergleich mit
 radioaktivem Thallium, das, wie oben erwähnt, von E. Lebo-
 witz et al in J. Nucl. Med. 16:2, Seite 151 (1975) als Herz-
 abbildungsmittel beschrieben wurde. Diese Ladungsdezentrali-
 sierung ermöglicht eine passive Äquilibrierung mit dem elek-
 35 trischen Potential in der gesamten Membran. Folglich werden
 diese radiomarkierten lipophilen Kationen der Formel A in
 dem Myokard gemäß dem relativ hohen negativen Nettopotenti-
 al, das bekanntermaßen in den Myokardmembranen vorliegt,

1 lokalisiert.

In Versuchen mit Ratten zeigen die radiomarkierten lipophilen Kationen der Formel A eine rasche Ansammlung und eine
5 wesentliche Lokalisierung im Herzen. Mit anderen Worten, das Verhältnis der Konzentration an Radioaktivität im Herzen zu der Konzentration der Radioaktivität in den Nichtzielbereichen, wie im Blut, den Lungen und der Leber, ist hoch. Außerdem ist die Radioaktivitätskonzentration im Myokard
10 offenbar konstant mit der Zeit, während andere größere Organe abnehmende Radioaktivitätswerte zeigen. Diese wichtige Lokalisierung im Herzen ist ein wesentlicher Vorteil der radiojodierten Kationen der Formel A.

15 Wenn hier der Ausdruck "Alkyl" verwendet wird, so bedeutet er entweder Methyl, Äthyl, n-Propyl oder Isopropyl. Der Ausdruck "Aryl", wie er hier verwendet wird, bedeutet entweder Phenyl oder Benzyl. Der Ausdruck "Jod" bedeutet alle Radioisotopen von Jod. In der Formel A kann (L) in ortho-, meta-
20 oder para-Stellung zu der quaternären Gruppe stehen, wobei die para-Stellung bevorzugt ist.

Es gibt Beschränkungen hinsichtlich der möglichen Verbindungen, die in dem Verfahren nach der Erfindung verwendbar
25 sind. Mindestens zwei Arylreste sind erforderlich, so daß die Verbindung nicht zu polar ist und so aus dem biologischen System gewaschen wird. Umgekehrt ist die Größe und Anzahl der Substituentengruppen der Verbindung durch die notwendige Löslichkeit dieser Verbindungen begrenzt.

30

Bevorzugte Verbindungen nach der Erfindung sind beispielsweise Jodtetraphenylphosphoniumbromid, Jodmethyltriphenylphosphoniumbromid, Jodphenylbenzyltrimethylammoniumbromid, Jodtetraphenylarsoniumchlorid, Jodbenzyltriphenylphosphoniumbromid, Brombenzyltriphenylphosphoniumbromid, Jodbenzyltriphenylphosphoniumchlorid, Joddibenzyltrimethylammoniumbromid.
35

1 Wie oben festgestellt wurde, lokalisieren sich die radioaktiven lipophilen Kationen der Formel A rasch und verbleiben in dem Herzen nach intravenöser Verabreichung. In Versuchen mit Ratten zeigten die Verbindungen nach der Erfindung eine
5 hohe Ansammlung im Herzen während einer Zeitspanne von 15 Minuten bis 2 Stunden. Die Konzentration der Verbindungen nach der Erfindung im Herzen, die als Herzaufnahme bezeichnet wird, während dieser Zeitspanne ist viel höher als bei jeder anderen Chemikalie, die für die Herzabbildung bisher
10 verwendet wurde. Außerdem nimmt in dieser Zeitspanne die Konzentration der Verbindungen nach der Erfindung in den benachbarten Nichtzielorganen ab.

Die radiojodierten Verbindungen nach der Erfindung können
15 in einem wäßrigen oder einem wäßrig-alkoholischen Medium verabreicht werden.

Die Verbindungen nach der Erfindung sind im Handel erhältlich oder können nach einem Verfahren hergestellt werden,
20 das jeder Fachmann bestimmen kann. Die folgenden Beispiele erläutern die Erfindung. Andere Verbindungen dieser Typen können mit anderen Substituentengruppen nach Methoden hergestellt werden, die für den Fachmann auf der Hand liegen. Außerdem kann jede der Substituentenkonfigurationen entweder
25 einen Ammonium-, einen Phosphonium- oder einen Arsoniumkomplex einschließen.

Beispiel 1

30 0,005 ml N,N-Dimethylanilin wurden in 0,100 ml Methanol gelöst, das etwa 0,5 m Ci Natrium-[¹²⁵I]-jodid enthielt. 0,020 ml einer frisch bereiteten Lösung von Chloramin-T in Methanol (0,001 g/0,001 ml) wurden zugesetzt, und die Lösung wurde während 5 Minuten sorgfältig durchmischt. 0,100 ml einer
35 gesättigten Lösung von Natriummetabisulfit wurde zugegeben, und die Lösung wurde erneut sorgfältig durchmischt.

Das Reaktionsgemisch wurde auf eine Hochleistungs-Flüssig-

1 keitschromatographiesäule (Waters Associates RCM-100 C₁₈ -
Umkehrphasensäule) aufgegeben, und das Zwischenprodukt wurde
mit Methanol/Wasser (7 : 3 Volumen/Volumen) eluiert. Jod-
(N,N)-dimethylanilin hat einen Kapazitätsfaktor k' (k' =
5 [Volumen, bei dem das Produkt eluiert - Hohlraumvolumen]
: [Hohlraumvolumen]) von 7,8, während das k' für N,N-Dime-
thylanilin 3,5 ist.

p-Jod-N,N-dimethylanilin wurde aus dem Methanol/Wasser-Ge-
10 misch mit einer kleinen Chloroformmenge extrahiert, wonach
das Chloroform mit Magnesiumsulfat getrocknet wurde und
0,050 ml Benzylbromid zugegeben wurden. Das Gemisch wurde
über Nacht gerührt, zweimal mit Kochsalzlösung extrahiert,
durch ein 0,22 µM-Milliporfilter geführt und bei 50° C in
15 einer verstöpselten Serumflasche gelagert.

Die radiochemische Reinheit des Endproduktes, p-Jodphenyl-
benzyltrimethylammoniumbromid, wurde durch Dünnschichtchroma-
tographie bestätigt. Der R_f-Wert für das Produkt war 0,35
20 in Aceton/Wasser (4 : 1 Volumen/Volumen). Mehr als 95 % der
analysierten Aktivität war mit dem Produkt verbunden, was
zu einer radiochemischen Gesamtausbeute von etwa 72 % führ-
te. Ein Anteil wurde für die Bestimmung der spezifischen
Aktivität unter Verwendung der von H.D. Burns et al in J.
25 Nucl. Med. 21, Seite 875 bis 879 (1980) beschriebenen Metho-
de verwendet. Die gemessene spezifische Aktivität war wenig-
stens 40 Ci/mMol.

Beispiel 2

30

Mit Tritium behandeltes Tetraphenylphosphoniumbromid ist
im Handel erhältlich. Außer dem Tritium kann diese Verbin-
dung mit anderen bekannten Markierungssubstanzen, wie einem
Radioisotop von Jod markiert werden. Beispielsweise kann
35 dies nach Standardverfahren, wie Austauschreaktion mit reak-
tivem Jod unter Verwendung von handelsüblichem radioaktivem
Natriumjodid und Jodtetraphenylphosphoniumbromid erfolgen.
Das Jodtetraphenylphosphoniumbromid kann nach dem Verfahren

1 synthetisiert werden, das von L. Horner und H. Hoffman in
Chem. Ber. 91, Seite 45 (1957) beschrieben ist. Eine Jodie-
rung wurde jedoch nicht durchgeführt.

5 Beispiel 3

Mit Tritium behandeltes Methyltriphenylphosphoniumbromid
ist im Handel erhältlich. Radiohalogenierung dieser Verbin-
dung kann durch Halogenaustausch erfolgen. Jodiertes Methyl-
10 triphenylphosphonium erwies sich aber als nicht so wasser-
löslich wie die mit Tritium behandelte Verbindung.

Beispiel 4

15 I*-Jodbenzylphenylphosphoniumbromid, worin I* ^{125}I , ^{123}I oder
 ^{131}I ist, kann potentiell aus p-Nitrobenzyltriphenylphospho-
niumbromid nach der Triazenmethode nach T.J. Tewson und M.J. Welch
gemäß J. Nucl. Med. 20, Seite 671 (1979) und W. Maeda, T.J.
Tewson und M.J. Welch gemäß Third International Symposium
20 on Radiopharmaceutical Chemistry, 16. bis 20. Juni 1980 syn-
thetisiert werden.

5 g p-Nitrobenzyltriphenylphosphoniumbromid wurden in etwa
150 ml Methanol gelöst. Diese Lösung wurde in eine Parr-Hy-
25 drierflasche überführt. Etwa 1 g Raney-Nickel, das vorher
mit absoluten Äthanol gewaschen worden war, wurde zu dieser
Lösung zugegeben. Die Parr-Hydrierflasche wurde in die Parr-
Hydrierapparatur gegeben. Ein Vakuum wurde an die gesamte
Apparatur angelegt, und anschließend wurde mit Wasserstoff-
30 gas gespült. Dies wurde mindestens dreimal wiederholt. Das
Vakuum wurde so lange aufrechterhalten, daß das Gas aus dem
Methanol ausperlen konnte.

Nach der Endspülung ließ man Wasserstoff mit einem Druck
35 von 4,9 kg/cm² (70 psi) eintreten. Die Reaktion verlief wäh-
rend wenigstens 24 Stunden, während der Wasserstoffdruck
auf 4,9 kg/cm² (70 psi) gehalten wurde. Nach der Reaktion
wurde die Flasche aus der Apparatur entfernt, und aus dem

- 1 Filter wurde das Lösungsmittel vorsichtig abgesaugt, wobei weiteres Lösungsmittel vorsichtig zugegeben wurde, um das Nickel feucht zu halten. Die nickelhaltige Nutsche wurde unmittelbar in verdünnte Salpetersäure gegeben. Dann wurde
- 5 das Methanollösungsmittel in einer Rotovap-Apparatur verdampft und über Nacht im Vakuum weiter getrocknet. Ein NMR-Spektrum dieses Produktes stand in Übereinstimmung mit der Struktur von $p\text{-NH}_2\text{-Benzyltriphenylphosphoniumbromid}$. Über eine Sandmeyer-Reaktion mit der oben erwähnten Triazenmetho-
- 10 de nach Tewson kann dieses Produkt in $I^*\text{-Jodbenzyltriphenylphosphoniumbromid}$ umgewandelt werden.

Beispiel 5

- 15 Eine 2 : 1-Überschuß von $p\text{-Brombenzylbromid}$, gelöst in 20 bis 30 ml entgastem (Argon) Toluol wurde zu 2,62 g Triphenylphosphin, gelöst in 10 ml entgastem Toluol, zugesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht in einem Ölbad unter Rückfluß erhitzt. Das Phosphoniumsalz, $p\text{-Brombenzyltriphe-}$
- 20 $\text{nylphosphoniumbromid}$, fiel aus der Lösung aus. Radioaktive Markierung wurde noch nicht durchgeführt.

Beispiel 6

- 25 Ein 2 : 1-Überschuß von $o\text{-Jodbenzylchlorid}$, gelöst in entgastem (Argon) Toluol wurde zu einer entgasten Lösung von 5,18 g Triphenylphosphin, gelöst in 100 ml Toluol, zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 66 Stunden unter Rückfluß (etwa 110°C) erhitzt. Das Produkt fiel aus der Lösung wäh-
- 30 rend der Reaktion aus.

Nachdem man das Reaktionsgemisch auf Umgebungstemperatur hatte abkühlen lassen, wurden etwa 30 ml Petroläther zu dem Gemisch zugesetzt. Der Niederschlag wurde abfiltriert und

35 mit reichlichen Mengen an Petroläther gewaschen. Die Endwaschung erfolgte mit Äthyläther. Das Produkt war $o\text{-Jodbenzyltriphenylphosphoniumchlorid}$.

- 1 Eine radioaktive Markierung war noch nicht erfolgt.

Beispiel 7

- 5 Dibenzyltrimethylammonium wurde für die Verwendung in der Durchdringung von Mitochondrienmembranen von E.L. Bakeeva et al in Biochem. Biophys. Acta, 216 (1970, Seiten 13 bis 21 beschrieben. Die Ansammlung von Dibenzyltrimethylammonium in Reaktion auf einen elektrischen Gradienten wurde später
10 von Altendorf et al in J. Bio. Chem. 250, 4, Seiten 1403 bis 1412 (1975) studiert. Nach Standardverfahren kann diese bekannte Verbindung mit einem radioaktiven Halogen unter Bildung einer Verbindung, wie I-125-Joddibenzyltrimethylammoniumbromid markiert werden.

15

Beispiel 8

- T. Higuti et al, J. Biol. Chem. 255:16, Seiten 7631 bis 7636 (1980), stellten fest, daß Tetraphenylarsoniumchlorid im Handel erhalten werden kann. Diese Verbindung kann mit einem
20 radioaktiven Halogen nach Standardmethoden, wie in Beispiel 2 diskutiert, unter Bildung von Verbindungen, wie beispielsweise I-125-Jodtetraphenylarsoniumchlorid, markiert werden. Wenn die Tetraphenylarsoniumverbindung mit radioaktivem Arsen hergestellt wurde, kann die Halogenmarkierung überflüssig sein.

Beispiel 9

- 30 Biologische Versuche wurden unter Verwendung von Verbindungen aus den obigen Beispielen durchgeführt. Speziell wurden I-125-Jodphenylbenzyltrimethylammoniumbromid, das gemäß der in Beispiel 1 beschriebenen Methode synthetisiert worden war, H-3-Tetraphenylphosphoniumbromid, das in Beispiel 2
35 beschrieben ist, und H-3-Methyltriphenylphosphoniumbromid, das in Beispiel 3 beschrieben ist, getestet. Die Verbindungen wurden für die Injektion aufbereitet, indem 0,400 ml der Verbindung in Äthanol (0,250 m Ci/0,5 ml) in 4,00 ml

1 einer 0,9 %igen Kochsalzlösung pipettiert wurden. Diese Lösung wurde untersucht, indem 0,100 ml der Verbindung auf 10 ml (Kochsalzlösung) verdünnt wurde, 0,020 ml in Kühlampullen pipettiert wurden und 10 ml Scintillationscocktail 5 (NEN Aquasol II) zugegeben wurden.

Zwölf weibliche Sprague-Dawley-Ratten (etwa 220 g) wurden ohne vorheriges Hungern leicht ätherisiert und erhielten 0,2 ml Lösung von etwa 0,010 m Ci der Verbindung (10 mCi/mg) 10 in die Schwanzvene verabreicht. Bei 15 Minuten, 30, 60 und 120 Minuten nach Verabreichung der Injektion wurden Gruppen der drei Tiere durch Inhalation einer CO₂-Überdosis getötet. Ausgewählte Gewebe wurden entfernt (50 bis 80 mg) und in vorgewogene Scintillationsampullen gefüllt. Die abgenommenen 15 Organproben waren Blut, Gehirn, Herz (Apex), Lunge, Leber, Milz, Pancreas, Magen, Dünndarm, Niere und Muskel. Nach erneutem Wiegen der Probenampullen wurden die Gewebe für Flüssigkeits-Scintillationsauszählung genommen.

20 Die Aktivitätskonzentration im Herzen und in den Nachbarorganen wurde als Prozentsatz der verabreichten Dosis je Gramm berechnet. Das Verhältnis der Aktivitätskonzentration im Herzen zu der Aktivitätskonzentration in den Nichtzielorganen wurde dann errechnet. Die Ergebnisse sind in der folgenden 25 Tabelle aufgeführt.

Die Verbindungen nach der Erfindung, die getestet wurden, führten zu viel vorteilhafteren Herzabbildungen als das derzeit verwendete Thallium und selbst als die von R.E. Counsell et al in J. Nucl. Med. 15:11, Seiten 991 bis 996 (1974) 30 vorgeschlagenen Bretylliumanalogen. Die nachfolgende Tabelle zeigt, daß die Herzaufnahme der Verbindungen nach der Erfindung viel größer als die von Thallium und des Bretylliumanalogen ist. Die Verhältnisse von Zielorgan zu Nichtzielorganen für die Verbindungen nach der Erfindung sind auch 35 viel größer als jene von Thallium.

1 In einem getrennten Test wurde I-125-Jodphenylbenzyldime-
thylammoniumbromid nach der Erfindung mit Thallium vergli-
chen, das das Herzabbildungsmittel nach dem Stand der Tech-
nik ist. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle II
5 zusammengestellt. Die Ergebnisse wurden 30 Minuten nach Ver-
abreichung des Herzabbildungsmittels erhalten.

Tabelle II

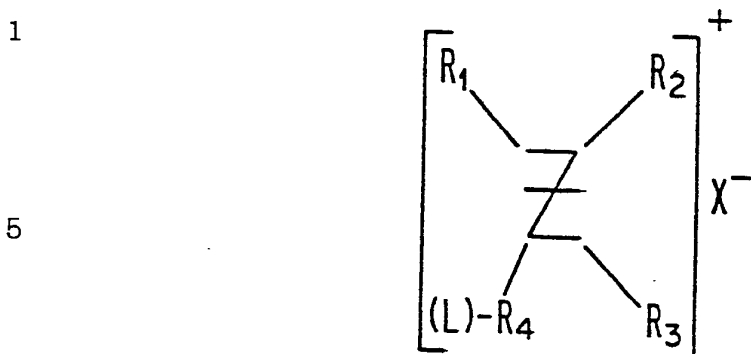
| | | | | | | | | |
|----|---|--------------|--------------|-------------|-------------------|--------------|--------------|-------|
| 10 | Radioaktivitätsverteilung bei Ratten nach Verabreichung von I-PBDA gegen- über Thallium | | | | | | | |
| | <u>Prozente Dosis je Gramm</u> | | | | <u>Verhältnis</u> | | | |
| 15 | | | | | Herz/ | Herz/ | Herz/ | |
| | <u>Blut</u> | <u>Lunge</u> | <u>Leber</u> | <u>Herz</u> | <u>Blut</u> | <u>Lunge</u> | <u>Leber</u> | |
| | I-Phenylben- | | | | | | | |
| 20 | zyldimethyl- | | | | | | | |
| | ammoniumbromid | 0,1133 | 0,9472 | 0,3456 | 4,6213 | 42,08 | 5,04 | 13,33 |
| | Thallium | 0,0431 | 1,525 | 1,2275 | 3,5858 | 100,43 | 2,44 | 3,11 |

25

30

35

1. Verfahren zur Abbildung des Myokard von Säugetieren, dadurch gekennzeichnet, daß man intravenös radiomarkierte
20 lipophile Kationen quaternärer Ammoniumverbindungen, quaternärer Phosphoniumverbindungen oder quaternärer Arsoniumverbindungen der allgemeinen Formel



injiziert, worin R_1 und R_2 Alkyl- oder Arylreste bedeuten, R_3 ein Phenylrest oder Benzylrest ist, R_4 einen radiomarkierten Phenyl- oder Benzylrest bedeutet und X Br^- , I^- oder Cl^- ist und worin L I^{123} , I^{125} , I^{131} , Br^{77} , Br^{82} oder F^{18} ist und Z Stickstoff, Phosphor oder Arsen bedeutet, und sodann das Myokard mit Hilfe der Radioaktivität abbildet.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man als quaternäre Verbindung ein Halogentetraarylammoniumhalogenid, Halogentetraarylphosphoniumhalogenid und/oder Halogentetraarylarsoniumhalogenid injiziert.

3. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß man als quaternäre Verbindung Jodtetraphenylphosphoniumbromid, Jodtetraphenylarsoniumchlorid, Jodbenzyltriphenylphosphoniumbromid, Brombenzyltriphenylphosphoniumbromid und/oder Jodbenzyltriphenylphosphoniumchlorid injiziert.

4. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man als quaternäre Verbindung ein Halogendiaryldialkylammoniumhalogenid, Halogendiaryldialkylphosphoniumhalogenid und/oder Halogendiaryldialkylarsoniumhalogenid injiziert.

5. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß man als quaternäre Verbindung Joddibenzyl dimethylammoniumbromid und/oder Jodphenylbenzyl dimethylammoniumbromid injiziert.

1 6. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß
man als quaternäre Verbindung ein Halogenalkyltriarylam-
moniumhalogenid, Halogenalkyltriarylphosphoniumhalogenid
und/oder Halogenalkyltriarylarsoniumhalogenid injiziert.

5

7. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß
man als quaternäre Verbindung Jodmethyiltriphenylphospho-
niumbromid injiziert.

10

15

20

25

30

35