

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 Helmway, 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**

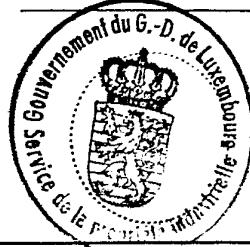
Waxweiler

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.

A 68007

(1) Nom, prénom, firme, adresse — (2) s'il a lieu «représenté par ...» agissant en qualité de mandataire — (3) date du dépôt
en toutes lettres — (4) titre de l'invention — (5) noms et adresses — (6) brevet, certificat d'addition, modèle d'utilité — (7)
pays — (8) date — (9) déposant originaire — (10) adresse — (11) 6, 12 ou 18 mois.

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 aufnahmen, 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 Radioaktivität, indem man zunächst ein radioaktiv markiertes bzw. radiomarkiertes lipophiles Kation bevorzugt in den Myokardfasern konzentriert und sodann unter Verwendung bekannter Techniken mit Hilfe der Radioaktivität eine Abbildung 20 erzeugt.

Bei der Durchführung der Stufe der bevorzugten Konzentrierung 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 quaternärer Ammoniumverbindungen, quaternärer Phosphoniumverbindungen 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. Tatsächlich ist die Myokardbevorzugung dieser Substanzen ausreichend groß, um eine hohe Myokardkonzentration an Radioaktivität und gleichermaßen genügend große Verhältnisse von Radioaktivität im Myokard zu Radioaktivität in den Nichtzielbereichen zu erhalten, um eine wesentlich bessere diag-

1 nostische Abbildung des Myokard zu erzielen.

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

10

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

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

30 In der obigen Liste quaternärer Verbindungen können die Me- thylgruppen 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 Abbildungseigenschaf- ten durch Radioaktivität zu verleihen und so Materialien zu erzeugen, die bei der Durchführung der vorliegenden Er- findung verwendet werden können, werden radioaktive Markie-

1 rungen in bekannter Weise auf einer oder auf mehreren der Arylreste fixiert. Solche Markierungen können aus den folgenden Elementen ausgewählt werden: I¹²³, I¹²⁵, I¹³¹, Br⁷⁷, Br⁸² und F¹⁸.

5

Die Anwendung von radioaktivem Jod zur Markierung organischer Verbindungen für die Verwendung in der diagnostischen Nuclearmedizin ist gut dokumentiert. Andere radioaktive Chemikalien wurden ebenfalls verwendet. Speziell für die gewerbliche Verwendung bei der Herzabbildung wurde radioaktives 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 Thallium ist jedoch teuer. Es führt auch zu einer mäßigen Abbildungsbarkheit 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 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 lokalisieren lassen, da letztere sonst die Abbildung des Herzens 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 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 biochemische Methode zur Bewertung des Zustandes des Transmembranpotentials 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 Methode umfangreich in zahlreichen biologischen Systemen verwendet, 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.

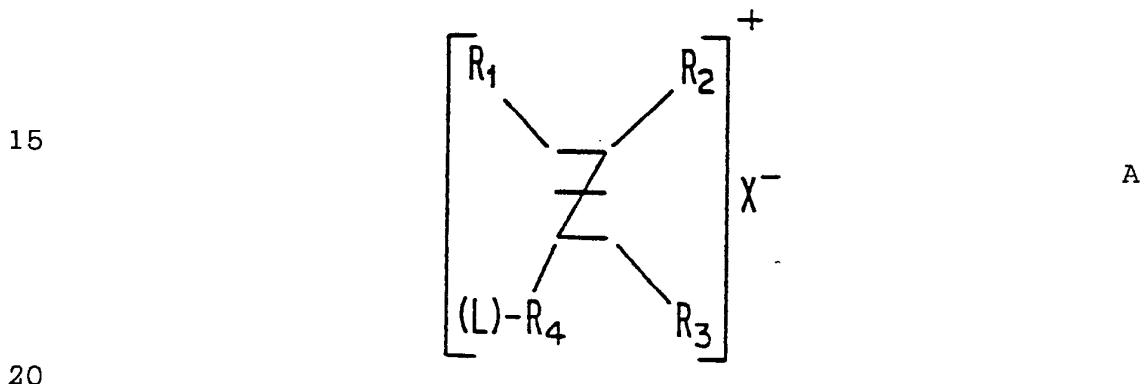
Es besteht die Theorie, daß, wenn die radiomarkierten lipophilen Kationen quaternärer Ammoniumverbindungen, quaternärer 15 Phosphoniumverbindungen und quaternärer Arsoniumverbindungen wenigstens zwei Arylreste haben, die Ladung der Kationen genügend dezentralisiert wird, um eine Lokalisierung des Kations 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 biochemischen Markierungssubstanzen, die für die Myokardabbildung verwendet wurden, chemisch unterschieden. Diese Verbindungen ergeben eine hohe Myokardkonzentration der Radioaktivität und günstige Verhältnisse von Myokardkonzentration zu Blut-, Leber- und Lungenkonzentrationen. Außerdem ist die Myokardkonzentration der Radioaktivität offenbar konstant mit der Zeit, während andere größere Organe abnehmende 25 Radioaktivitätswerte zeigen, was zu noch größeren Konzentrationsverhältnissen von Zielbereich zu Nichtzielbereich 30 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-
5 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-
10 myokardaufnahme an Radioaktivität viel geringer als jene, die nach der vorliegenden Erfindung erzielt wird.

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



worin R_1 und R_2 gleich oder verschieden sind und Alkylgrup-
25 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 ,
30 ^{77}Br , ^{82}Br oder ^{18}F und Z Stickstoff, Phosphor oder Arsen
ist, gerichtet.

35 Die radiomarkierten lipophilen Kationen der Formel A zeigen eine ausgeprägte Überlegenheit hinsichtlich der Ladungsde-
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-
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 Lokalierung 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 weggewaschen 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, Jodphenylbenzyldimethylammoniumbromid, Jodtetraphenylarsoniumchlorid, Jodbenzyltriphenylphosphoni- 35 umbromid, Brombenzyltriphenylphosphoniumbromid, Jodbenzyltriphenylphosphoniumchlorid, Joddibenzyldimethylammoniumbromid.

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-
thyylanilin 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 μ M-Milliporfilter geführt und bei 50° C in
15 einer verstöpselten Serumflasche gelagert.

Die radiochemische Reinheit des Endproduktes, p-Jodphenyl-
benzyldimethylammoniumbromid, 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 Jodierung
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 Methanolösungsmittel 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 $n\text{ylphosphoniumbromid}$, 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 während 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 Endwäsche erfolgte mit Äthyläther. Das Produkt war $o\text{-Jodbenzyltriphenylphosphoniumchlorid}$.

1 Eine radioaktive Markierung war noch nicht erfolgt.

Beispiel 7

5 Dibenzylidemethylammonium 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 Dibenzylidemethylammonium 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-Joddibenzylidemethylammoniumbromid 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 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 Ar-25 sen 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-Jodphenylbenzylidemethylammoniumbromid, das gemäß der in Beispiel 1 beschriebenen Methode synthetisiert worden war, H-3-Tetraphenylphosphoniumbromid, das in Beispiel 2 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 Lö-
sung wurde untersucht, indem 0,100 ml der Verbindung auf
10 ml (Kochsalzlösung) verdünnt wurde, 0,020 ml in Kühlam-
pullen 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 er-
neutem Wiegen der Probenampullen wurden die Gewebe für Flüs-
sigkeits-Scintillationsauszählung genommen.
20 Die Aktivitätskonzentration im Herzen und in den Nachbaror-
ganen wurde als Prozentsatz der verabreichten Dosis je Gramm
berechnet. Das Verhältnis der Aktivitätskonzentration im
Herzen zu der Aktivitätskonzentration in den Nichtzielorga-
nen wurde dann errechnet. Die Ergebnisse sind in der folgen-
25 den Tabelle aufgeführt.

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

80
60
40
20
0

Tabelle I

Verteilung der Radioaktivität bei Ratten nach Verabreichung von Herzabbildungsmittel

Markierte Verbin- dung entsprechend Beispiel Nr.	Prozentige Dosis je Gramm			Herz/Blut	Herz/Lunge	Herz/Leber	Zeit nach Verabreichung
	Blut	Lunge	Leber				
1	0,257	1,224	0,709	6,438	25,19	5,28	9,27
2*	0,048	1,407	0,387	4,100	87,2	2,91	10,73
3*	0,067	1,036	0,280	3,559	53,4	3,4	13,9
1	0,259	1,279	0,556	6,700	25,91	5,43	12,15
2	0,036	1,316	0,485	4,407	123,9	3,4	9,2
3	0,055	1,116	0,228	3,466	61,6	3,1	15,5
1	0,173	0,676	0,374	5,919	35,61	8,89	16,36
2	0,014	0,993	0,364	4,257	306,5	4,4	16,6
3	0,043	0,709	0,087	3,021	71,2	4,3	30,1
1	0,149	0,436	0,410	6,860	49,03	15,56	14,55
2	0,012	0,705	0,224	4,170	416,6	5,9	19,8
3	0,041	0,558	0,064	2,468	60,1	4,4	39,8
R IBA**	0,02	0,128	0,112	0,832	41,5	6,5	7,5

*) Mit Tritium markiert

**) Radioiodiertes Breytilliumanaloges. Die Werte wurden von R.E. Counsell et al in J. Nucl. Med. 15:11, Seiten 991 bis 996 (1974) berichtet. Einzelne Organkonzentrationen wurden von Counsell et al als Prozentsatz der verabreichten (kg) Dosis je Gramm berichtet. Sie wurden in die gleiche Form wie die anderen Ergebnisse umgewandelt, indem sie durch das angenommene mittlere Gewicht einer Ratte von 0,25 kg geteilt wurden. Die Konzentration in dem Herzen ist die Ventrikelkonzentration.

1 In einem getrennten Test wurde I-125-Jodphenylbenzyldimethylammoniumbromid nach der Erfindung mit Thallium verglichen, das das Herzabbildungsmittel nach dem Stand der Technik ist. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle II
5 zusammengestellt. Die Ergebnisse wurden 30 Minuten nach Verabreichung des Herzabbildungsmittels erhalten.

Tabelle II

10 Radioaktivitätsverteilung bei Ratten
nach Verabreichung von I-PBDA gegen-
über Thallium

15	<u>Prozente Dosis je Gramm</u>				<u>Verhältnis</u>		
	<u>Blut</u>	<u>Lunge</u>	<u>Leber</u>	<u>Herz</u>	<u>Blut</u>	<u>Lunge</u>	<u>Leber</u>
				Herz/ Herz			Herz/ Herz/ Leber
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

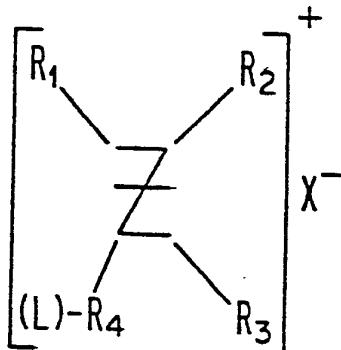
25

30

35

-
1. Verfahren zur Abbildung des Myokard von Säugetieren, da-
durch gekennzeichnet, daß man intravenös radiomarkierte
20 lipophile Kationen quaternärer Ammoniumverbindungen, qua-
ternärer Phosphoniumverbindungen oder quaternärer Arsoni-
umverbindungen der allgemeinen Formel

1



5

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 Halogentetraarylammomiumhalogenid, 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 Joddibenzylidimethylammoniumbromid und/oder Jodphenylbenzylidimethylammoniumbromid injiziert.

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

5

7. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß man als quaternäre Verbindung Jodmethyltriphenylphosphoniumbromid injiziert.

10

15

20

25

30

35