



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 699 30 381 T2** 2006.12.07

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 175 388 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **699 30 381.8**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US99/09344**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **99 918 906.1**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 2000/066537**

(86) PCT-Anmeldetag: **30.04.1999**

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **09.11.2000**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **30.01.2002**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **15.03.2006**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **07.12.2006**

(51) Int Cl.⁸: **C07C 211/27** (2006.01)

C07C 211/29 (2006.01)

C07C 321/30 (2006.01)

A61K 51/00 (2006.01)

A61K 51/04 (2006.01)

(73) Patentinhaber:

**Trustees of the University of Pennsylvania,
Philadelphia, Pa., US**

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,
LI, LU, MC, NL, PT, SE**

(74) Vertreter:

Becker, Kurig, Straus, 80336 München

(72) Erfinder:

Kung, F., Hank, Wynnewood, PA 19096, US

(54) Bezeichnung: **SPECT ABBILDUNGSREAGENZEN FÜR SEROTONINTRANSPORTER**

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 eingelegt, 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

[0001] Ein Teil der während der Entwicklung dieser Erfindung durchgeführten Arbeit beanspruchte Finanzmittel der U.S. Regierung unter dem NIH Grant No. NS-35120. Die U.S. Regierung besitzt bestimmte Rechte an dieser Erfindung.

[0002] Diese Erfindung betrifft neuartige Verbindungen für ZNS-Neurotransmittersysteme, insbesondere für den Neurotransmitter Serotonin, welche benutzt werden können, um die Neurotransmitter-Wiederaufnahmesysteme im Hirn abzubilden.

[0003] Depression, mit ihren verwandten Zuständen, ist eine der häufigsten mentalen Störungen in den Vereinigten Staaten. Es wird geschätzt, dass etwa fünf Prozent der erwachsenen Bevölkerung eine depressive Episode in ihrer Lebenszeit erfahren, die eine antidepressive Arzneimitteltherapie erfordert. Eine Chemikalie im menschlichen Hirn, als Serotonin bezeichnet, wurde mit Depression und mit anderen psychiatrischen Krankheiten, wie Essstörungen, Alkoholismus, Schmerz, Angst und Zwangsneurose, in Verbindung gebracht.

[0004] Serotonin (5-HT) ist ein für die normale Funktion des Zentralnervensystems bedeutender Neurotransmitter. Dieses Neurotransmittersystem im Hirn kontrolliert verschiedene wichtige Verhaltensweisen, wie Schlaf-Wach-Zyklus, Laune, Temperatur, Appetit etc. Weiters interagieren etliche häufig verwendete Anti-Angst Arzneimittel (Frazer, A. and J. G. Hensler, Ann. NY Acad. Sci. 600: 460–475 (1990); Gozlan, H. and M. Hamon, Anxiety: Neurobiol., Clinic and Ther. Persp. 232: 141–150 (1993)) und Antidepressiva (Frazer, A., J. Clin. Psychiatry 6: 9–25 (1997); Coryell, W., J. Clin. Psychiatry 1: 22–27 (1998); Heninger, G. R. et al., Pharmacopsychiatry 29(1): 2–11 (1996); Fuller R. W., Prog. Drug Res. 45: 167–204 (1995)) spezifisch mit der Serotonin-Neurotransmission. Pharmakologische Wirkungen der Antidepressiva (selektive Serotonin-Wiederaufnahmehemmer; SSRI: selective serotonin reuptake inhibitors), wie Fluoxetin (Wong, D.T. and F.P. Byraster, Biology 363: 77–95 (1995)), Paroxetin (Holliday, S.M. and G.L. Plosker, Drugs Aging 3(3): 278–299 (1993)) und Sertralin (Laune, M.C. et al., Int. J. Rad. Appl. Inst. – Part A, Applied Rad. Isot. 40(2): 147–151 (1989)) basieren auf der Blockade von präsynaptischen Transportern für Serotonin. Somit können Studien über die Radioligand-Bindung an den Serotonin-Transporter wertvolle Informationen von diesen Stellen in normalen und verschiedenen Krankheitszuständen liefern. Etliche tritierte Liganden, einschließlich Imipramin (Raisman, R. et al., Eur. J. Pharmacol. 54: 307–308 (1979)), Citalopram (D'Amato, R. et al., Pharmacol. Exp. Ther. 242(1): 364–371 (1987)), Paroxetin (Habert, E., et al., Eur. J. Pharmacol. 118(1–2): 107–114 (1985)) und 6-Nitroquipazin (Hashimoto, K., and T. Goromaru, Biochem. Pharmacol. 41(11): 1679–1682 (1991); Hashimoto K, and T. Goromaru, Neuropharmacology 30(2): 113–117 (1991)) sind für in vitro und in vivo Studien verwendet worden. Eine verringerte Konzentration an SERT, die mit diesen tritierten Liganden markiert sind, wurde in post mortem Hirnsektionen von Patienten mit Depressionen (Perry, E. K. et al., Br. J. Psychiat. 142: 188–192 (1983)), Alzheimer'schen und Parkinson'schen Krankheiten (D'Amato, R. et al., Pharmacol. Exp. Ther. 242(1): 364–371 (1987)) sowie im Stirnhirnlappen eines Selbstmordopfers (Mann, J. J., Nature Medicine 4(1): 25–30 (1998)) nachgewiesen. Die in vitro Bindungsstudien deuten darauf hin, dass die Verwendung von in vivo Bildgebungsverfahren, um die Dichte von SERT zu evaluieren, klinisch wichtig sein könnte.

[0005] Antidepressive Arzneimittel, wie Prozac, führen zur Inhibierung der Serotonin-Wiederaufnahme durch Bindung mit dem Serotonin Transporter (SERT)-Protein, wodurch die Bindung des Proteins mit Serotonin effektiv blockiert ist. Obwohl herausgefunden wurde, dass Prozac eine wirksame antidepressive Behandlung ist, weist es Nebenwirkungen auf, die beträchtlich sein können. Von Prozac ist bekannt, dass es an den Serotonin Transporter (SERT)-Protein bindet, jedoch können die Reaktionen der Patienten sehr unterschiedlich sein. Einige Patienten erfahren eine stärkere Bindung als Andere. Wenn ein Patient nicht auf die Prozac-Behandlung reagiert, gibt es derzeit keine Möglichkeit zum Bestimmen, warum dies der Fall ist. Der Arzt wird häufig einfach höhere Dosen des Arzneimittels verabreichen, eine Praxis, die nicht notwendigerweise zu besseren Ergebnissen führt und welche die unerwünschten Nebenwirkungen verstärken kann.

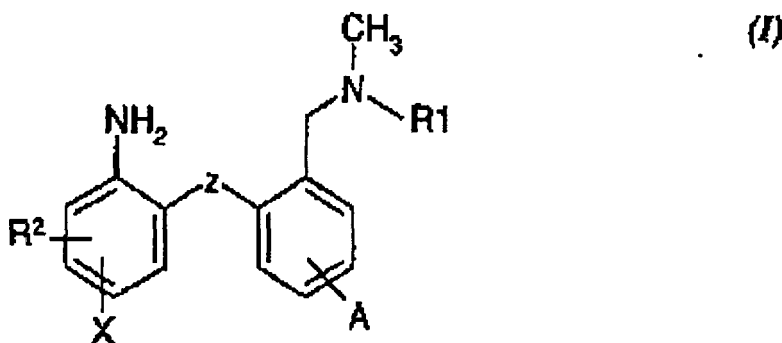
[0006] Die Entwicklung von selektiven Tracern für die Positronen-Emissions-Tomographie (PET) und Single Photon Emission Computed Tomographie (SPECT) haben es ermöglicht, die Neurorezeptoren oder ortsspezifische Bindungen nicht-invasiv in menschlichen Hirnen in vivo zu untersuchen. Die Entwicklung von PET oder SPECT Tracern für die in vivo Bildgebung von SERT wurde jedoch nur mit beschränktem Erfolg erreicht. Der vielversprechendste, bis heute beschriebene Radioligand für die PET Bildgebung ist [¹¹C](+)-McN5652 (Szabo, Z. et al. Synapse 20(1): 37–43 (1995); Szabo, Z. et al., J. Nucl. Med. 37(5): 125 (1996); Szabo, Z. Behav. Brain Res. 73(1): 221–224 (1995); Szabo, Z. et al., J. Cerebral Blood Flow & Metabol. 15(5): 798–805 (1995); Suehiro, M. et al., J. Nucl. Med. 34(1): 120–127 (1993); Suehiro, M. et al., Nucl. Med. Biol. 22(4): 543–545 (1995)). Die spezifische Bindung von [¹¹C](+)-McN5652 korreliert gut mit den bekannten Dichten der SERT Stellen in

dem menschlichen Hirn (Szabo, Z. et al., Synapse 20(1): 37–43 (1995)). Auf der Suche nach klinisch nützlichen SPECT-Liganden für SERT wurden mehrere radioiodinierte Verbindungen evaluiert, einschließlich 4-I-Tomo-xetin (Kung, M. P., et al., Life Sci. 51: 95–106 (1992)). Unter diesen Tracern, zeigte nur [123 I]5-Iod-6-nitroquipa-zin (Biegon, A. et al., Brain Res. 619: 236–246 (1993); Mathis, C.A. et al., Brain Res. 619: 229–235 (1993); Mathis, C.A. et al., Eur. J. Pharmacol. 210(1): 103–104 (1992)) vielversprechende Eigenschaften für das Kartieren von SERT Stellen in Affenhirnen (Jagust, W.J. et al., J. Nucl. Med. 37(7): 1207–1214 (1996)). Es wurde von keiner menschlichen Studie von [123 I]5-Iod-6-nitroquipazin berichtet. Die hohe nichtspezifische Bindung und der mit [123 I]5-Iod-6-nitroquipazin beobachtete schnelle periphere Metabolismus in nicht menschlichen Primaten können seine Anwendungen als ein klinisch nützliches SPECT Bildgebungsmittel für SERT in menschlichen Hirnen beschränken. Es ist früher vorgeschlagen worden, dass [123 I]β-CIT(2β-Carbomethoxy-30-(4-iodphenyl)tropan), ein SPECT Bildgebungsmittel, welches zu sowohl DAT als auch SERT bindet, in der Lage sein wird, pathologische Veränderungen sowohl in dopaminergen und serotonergen Systemen klarzustellen. Es werden jedoch überlappende Aufnahmeregionen und unterschiedliche Kinetiken von [123 I]β-CIT, die an DAT und SERT binden, beobachtet (Fujita, M. et al., Eur. J. Nucl. Med. 23(4): 431–436 (1996); Kuikka, J.T. et al., Eur. J. Nucl. Med. 22(4): 346–250 (1995); Tiihonen, J. et al., Eur. J. Nucl. Med. 24(10): 1253–1260 (1997)). Trotzdem wurde die Wirkung einer selektiven SSRI in menschlichem Hirn durch [123 I]β-CIT/SPECT Bildgebung von SERT Stellen in Patienten mit Depressionen, die eine Behandlung mit Citalopram durchma-chen, direkt in vivo gemessen (Pirker, W. et al., J. Neural. Trans. Gen. Sec. 100(3): 247–256 (1995)). Eine selektivere Reihe von Verbindungen, nor-β-CIT (N-demethyliertes Analogon von β-CIT) (Bergstrom, K. A. et al., Eur. J. Nucl. Med. 24(6): 596–601 (1997)) und verwandte Derivate, (Blough, B. E. et al., J. Med. Chem. 40(24): 3861–3864 (1997)) sind kürzlich als verbesserte SPECT Bildgebungsmittel für SERT berichtet worden. Es wird angenommen, dass [123 I]nor-β-CIT ein geeigneter alternativer Tracer für die Visualisierung von SERT Stellen im menschlichen Hirn mit SPECT sein kann (Bergstrom, K. A., et al., Eur. J. Nucl. Med. 24(6): 596–601 (1997); Hiltunen, J. et al., Eur. J. Nucl. Med. 25(1): 19–23 (1998)). [123 I]nor-β-CIT bindet jedoch nach wie vor mit sowohl DAT als auch SERT, und die Selektivität ist nicht ausreichend, um zwischen diesen beiden monoaminale Trans-porterstellen zu unterscheiden. Der Bedarf für ein selektives SERT/SPECT Bildgebungsmittel ist nach wie vor nicht erfüllt. Es gibt deshalb einen starken Antrieb, um ein verbessertes Mittel mit einer besseren Selektivität für das Abbilden von SERT im Hirn zu finden.

[0007] Eine chlorierte Verbindung, 5-Chloro-2-((2-((dimethyl-amino)methyl)phenyl)thio)benzylalkohol (403U76) wurde als ein Inhibitor der Serotonin-Aufnahme und Norepinephrin-Aufnahme in Rattenhirn-Synap-tosomen ($K_i = 2,1$ bzw. 55 nM) berichtet (Ferris, R. M. et al., J. Pharm. Pharmacol. 47: 775–781 (1995); Brie-addy, L. E., „Substituted diphenylsulfides as serotonin uptake inhibitors,” veröffentlichte Internationale Paten-tanmeldung Nr. WO93/12080; Mehta, N. B., et al, "Halogen substituted diphenylsulfides," veröffentlichte Euro-päische Patentanmeldung EP 402,097 A1 (1990).

[0008] Oya S. et al. J. Med. Chem. 1999, 42(3)333–5 beschreibt Vorarbeiten, einschließlich von Daten über SERT Bindungen und über die Bildgebung von bromierten, iodierten und radioiodierten Spezies einer spezifi-schen Art von Verbindung, 1,5-Halo-2-((2-((dimethylamino)methyl)-phenyl)thio)benzylalkohol. Die Verbindun-gen sind Benzylalkohol-Derivate, d.h. jede Verbindung muss eine an den Ring gebundene Hydroxylme-thyl-Gruppe enthalten. Diese Referenz lehrt nicht spezifisch andere Arten von Verbindungen oder deutet auch nicht auf diese hin.

[0009] Ein erster Aspekt der vorliegenden Verbindung ist auf Verbindungen der Formel I gerichtet:



oder ein pharmazeutisch akzeptables Salz derselben, wobei

X Wasserstoff, Cl, Br, I, NO₂, NR³R⁴ oder -L-Ch ist;

Z S, O, NR⁶, CR⁷R⁸, C(O) oder -C(=CR⁷R⁸)- ist;

A Wasserstoff, Cl, I, Br oder -L-Ch ist;

R¹ Wasserstoff, C₁-C₅-Alkyl, C₃-C₈-Cycloalkyl, C₁₋₅-Alkylcarbonyl, (C₃-C₈-Cycloalkyl)carbonyl, Phenyl, Benzyl, Naphthyl, Naphthylmethyl oder -L-Ch ist;

R² Wasserstoff oder Methyl ist;

R³ und R⁴ unabhängig voneinander Wasserstoff, Hydroxy, C₁-C₅-Alkyl, C₃-C₈-Cycloalkyl, C₁₋₅-Alkylcarbonyl, (C₃-C₈-Cycloalkyl)carbonyl, Phenyl, Benzyl, Naphthyl, Naphthylmethyl oder -L-Ch sind;

R⁶ Wasserstoff, C₁-C₅-Alkyl, C₃-C₈-Cycloalkyl, C₁₋₅-Alkylcarbonyl, (C₃-C₈-Cycloalkyl)carbonyl, Phenyl, Benzyl, Naphthyl, Naphthylmethyl oder -L-Ch ist;

R⁷ und R⁸ unabhängig voneinander Wasserstoff, C₁-C₅-Alkyl oder Chlor sind;

L eine kovalente Bindung oder Verbindungsgruppe ist, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus -(CH₂)_n- und -(CH₂)_n-C(O), wo n 1–5 ist, und

Ch ein vierzähliger Ligand ist, der mit einem Metall Chelate bilden kann;

unter dem Vorbehalt, dass eins und auch nur eins von A, X, R¹, R³, R⁴ oder R⁶ -L-Ch ist;

oder unter dem Vorbehalt, dass X oder A Br oder I ist.

[0010] Die vorliegende Erfindung ist weiters auf radiomarkierte Verbindungen der Formel I gerichtet, wobei X oder A radioaktives Iod oder radioaktives Brom ist.

[0011] Die vorliegende Erfindung ist weiters auf radiomarkierte Verbindungen (oder Zwischenprodukte davon) der Formel I gerichtet, wobei eins von X, R¹, R³, R⁴, R⁵ oder R⁶ -L-Ch ist

[0012] Die vorliegende Erfindung ist ebenfalls auf Bildgebungsmittel, welche eine Verbindung nach Anspruch 1 aufweisen, gerichtet, wobei X ein radioaktives Brom oder Iod-Isotop ist.

[0013] Die vorliegende Erfindung ist ebenfalls auf Bildgebungsmittel gerichtet, welche Verbindung nach Anspruch 1 aufweisen, wobei einer von X, R¹, R³, R⁴, R⁵ oder R⁶ -L-Ch ist, und Ch eines der Formeln V, VI, oder VII ist.

Kurze Beschreibung der Figuren.

[0014] [Fig. 1](#) zeigt eine Scatchard Analyse von [¹²⁵I]IDAM welches an ein frontal-kortikales Membranhomogenisat bindet, die an mit einer salzhaltigen Kontrolle, und an mit PCA-behandelten Ratten durchgeführt wurde. Die Daten sind die Mittelwerte von 4 Kontrollen und 4 PCA-behandelten Ratten (Kontrolle: K_d = 0,25 nM ± 0,05 nM, B_{max} = 272 ± 30 fmol/mg Protein PCA-Läsion: K_d = 0,050 ± 0,15 nM, B_{max} = 20 ± 7 fmol/mg Protein).

[0015] [Fig. 2](#) stellt die Wirksamkeiten der Verbindungen, um die spezifische Bindung von [¹²⁵I]IDAM an Membranen zu inhibieren, welche aus Ratten frontalen kortikalen Homogenisaten hergestellt sind, dar. Die Mittelwerte von Dreifachbestimmungen sind in dem Diagramm von drei unabhängigen Experimenten gezeigt, wobei jedes zweifach ausgeführt wurde.

[0016] [Fig. 3A](#) und [3B](#) stelle die Effekte der Vorbehandlung mit verschiedenen Verbindungen auf die spezifische Bindung von [¹²⁵I]IDAM in Ratten Hirnregionen dar. Die Ratten wurden mit verschiedenen Arzneimitteln mit einer Dosis von 2 mg/kg, i.v. 5 Minuten vor der Tracer-Verabreichung vorbehandelt. Sechzig Minuten nach der Tracer-Injektion wurde die spezifische Bindung in jeder Hirnregion zwischen Salzlösung-vorbehandelten (Kontrolle) und Arzneimittel-vorbehandelten Ratten verglichen. Die Werte sind als Mittelwert ± Standardabweichung (SD) von drei Ratten in jedem Punkt *p < 0,05 dargestellt.

[0017] [Fig. 4A](#) bis [4F](#) stellen die ex vivo autoradiographische Lokalisierung von [¹²⁵I]IDAM Bindungsstellen in Ratten 60 Minuten nach der Injektion dar. Hohe Radioaktivitätsniveaus wurden in den Bereichen, welche hohe Dichten an Serotonin-Transporterstellen enthalten, beobachtet. Die koronalen Sektionen, die einem stereotaxischen Atlas entsprechen, sind wie folgt: 4A: Platte 14; 4B: Platte 19; 4C: Platte 24; 4D: Platte 31; 4E: Platte 39; 4F: Platte 48. CX: Cortex; Cpu: Caudatum/Putamen; LSD: laterales Septum; OT: olfaktorisches Tuberculum; GP: Globus pallidus; ThN: Thalamuskern; HN: Hypothalamische Kerne; CA1, CA2: Felder CA1, CA2; Ammonshorn; IP: Nucleus Interpeduncularis; SN: Substantia nigra; SC: Colliculus superiores; DR: dorsalen Raphe; MR: mediale Raphe.

[0018] [Fig. 5](#) zeigt transversale, koronale und saggitale Ansichten von SPECT (obere Reihe) Bildern von einem Paviankopf. Die SPECT Bilder stellen die aufsummierten Zählungen, die 60–120 Minuten nach der Injektion von [¹²⁵I]IDAM erhalten wurden, dar. Eine hohe Aktivitätskonzentration wurde in dem Mittelhirnbereich (MB: Raphekern, Substantia nigra und Hypothalamus) lokalisiert, wo SERT hoch konzentriert ist.

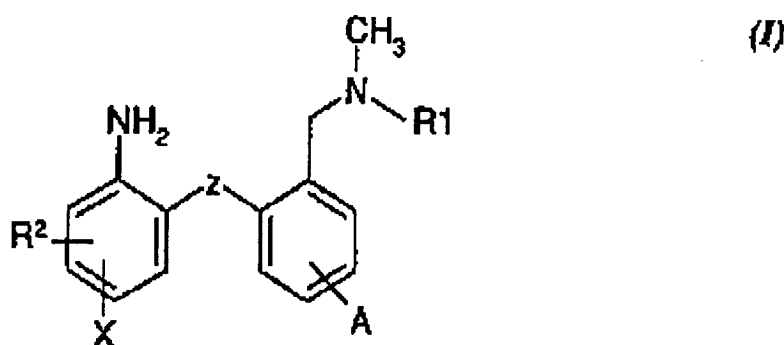
[0019] **Fig. 6** listet die Strukturen von verschiedenen Verbindungen auf, die gemäß den in dieser Anmeldung beschriebenen Verfahren synthetisiert werden können.

[0020] **Fig. 7** stellt einen Vergleich von MRI Bildern (Anatomie) und SPECT Bildern von [¹²⁵I]IDAM (SERT Lokalisierung) dar, die in transaxialen, sagittalen und koronalen Ansichten dargestellt sind (zwischen 60–120 Minuten nach i.v. Injektion). [¹²⁵I]IDAM lokalisierte mit hohen Konzentrationen im Mittelhirn (MB: Raphekern, Substantia nigra und Hypothalamus), wo die SERT Konzentration hoch ist: es zeigt keine spezifische Aufnahme im Zerebellum (Cer), einem Bereich dem SERT fehlt. Das Verhältnis von MB/CER Aufnahme bei 120 Minuten war 2,4.

[0021] **Fig. 8A** zeigt ein zusammengefasstes transversales Bild an dem Punkt des Pseudogleichgewichts (ungefähr 90–120 Minuten nach der Injektion) ungefähr auf dem Niveau des Mittelhirns. **Fig. 8B** zeigt die Zeit-Aktivitäts-Kurven für das Mittelhirn und Zerebellum für sowohl [¹²³I]IDAM und [¹²³I]ODAM (beide in dem selben Pavian).

Detaillierte Beschreibung der Erfindung

[0022] Ein erster Aspekt der vorliegenden Erfindung ist auf Verbindungen der Formel I gerichtet:



oder ein pharmazeutisch akzeptables Salz derselben, wobei

X Wasserstoff, Cl, Br, I, NO₂, NR³R⁴ oder -L-Ch ist;

Z S, O, NR⁶, CR⁷R⁸, C(O) oder -C(=CR⁷R⁸)- ist;

A Wasserstoff, Cl, I, Br oder -L-Ch ist;

R¹ Wasserstoff, C₁-C₅-Alkyl, C₃-C₈-Cycloalkyl, C₁₋₅-Alkylcarbonyl, (C₃-C₈-Cycloalkyl)carbonyl, Phenyl, Benzyl, Naphthyl, Naphthylmethyl oder -L-Ch ist;

R² Wasserstoff oder Methyl ist;

R³ und R⁴ unabhängig voneinander Wasserstoff, Hydroxy, C₁-C₅-Alkyl, C₃-C₈-Cycloalkyl, C₁₋₅-Alkylcarbonyl, (C₃-C₈-Cycloalkyl)carbonyl, Phenyl, Benzyl, Naphthyl, Naphthylmethyl oder -L-Ch sind;

R⁶ Wasserstoff, C₁-C₅-Alkyl, C₃-C₈-Cycloalkyl, C₁₋₅-Alkylcarbonyl, (C₃-C₈-Cycloalkyl)carbonyl, Phenyl, Benzyl, Naphthyl, Naphthylmethyl oder -L-Ch ist;

R⁷ und R⁸ unabhängig voneinander Wasserstoff, C₁-C₅-Alkyl oder Chlor sind;

L eine kovalente Bindung oder Verbindungsgruppe ist, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus -(CH₂)_n- und -(CH₂)_n-C(O)-, wo n 1–5 ist, und

Ch ein vierzähliger Ligand ist, der mit einem Metall Chelate bilden kann;

unter dem Vorbehalt, dass eins und auch nur eins von A, X, R¹, R³, R⁴ oder R⁶ -L-Ch ist;

oder unter dem Vorbehalt, dass X oder A Br oder I sind.

[0023] Die Verbindungen der vorliegenden Erfindung können die allgemeine Formel I besitzen, wobei

X Br oder I ist;

Z S, O, NR⁶, CR⁷R⁸, C(O) oder -C(=CR⁷R⁸) ist;

A Wasserstoff ist;

R¹ Wasserstoff, C₁-C₅-Alkyl, C₃-C₈-Cycloalkyl, C₁₋₅-Alkylcarbonyl, (C₃-C₈-Cycloalkyl)carbonyl, Phenyl, Benzyl, Naphthyl oder Naphthylmethyl ist;

R² Wasserstoff oder Methyl ist;

R⁶ Wasserstoff, C₁-C₅-Alkyl, C₃-C₈-Cycloalkyl, C₁₋₅-Alkylcarbonyl, (C₃-C₈-Cycloalkyl)carbonyl, Phenyl, Benzyl, Naphthyl oder Naphthylmethyl ist; und

R⁷ und R⁸ unabhängig voneinander Wasserstoff, C₁-C₅-Alkyl oder Chlor sind.

[0024] Die Verbindungen der vorliegenden Erfindung können die allgemeine Formel I besitzen, wobei

X Wasserstoff, Cl, Br, I, NO₂ oder NR³R⁴ ist;

Z S, O, NR⁶, CR⁷R⁸, C(O) oder -C(=CR⁷R⁸) ist;

A Br oder I ist;

R¹ Wasserstoff, C₁-C₅-Alkyl, C₃-C₈-Cycloalkyl, C₁₋₅-Alkylcarbonyl, (C₃-C₈-Cycloalkyl)carbonyl, Phenyl, Benzyl, Naphthyl oder Naphthylmethyl ist;

R² Wasserstoff oder Methyl ist;

R³ und R⁴ unabhängig voneinander Wasserstoff, Hydroxy, C₁-C₅-Alkyl, C₃-C₈-Cycloalkyl, C₁₋₅-Alkylcarbonyl, (C₃-C₈-Cycloalkyl)carbonyl, Phenyl, Benzyl, Naphthyl oder Naphthylmethyl sind;

R⁶ Wasserstoff, C₁-C₅-Alkyl, C₃-C₈-Cycloalkyl, C₁₋₅-Alkylcarbonyl, (C₃-C₈-Cycloalkyl)carbonyl, Phenyl, Benzyl, Naphthyl oder Naphthylmethyl ist; und

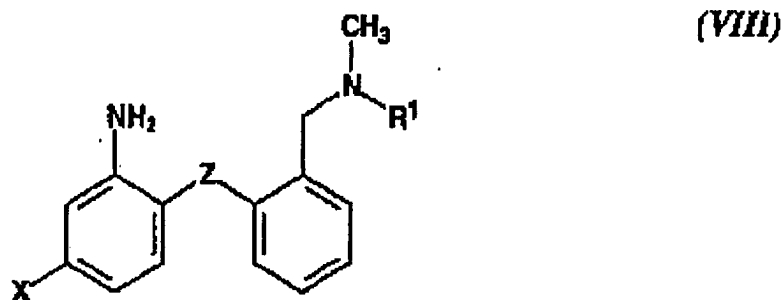
R⁷ und R⁸ unabhängig voneinander Wasserstoff, C₁-C₅-Alkyl oder Chlor sind.

[0025] Die vorliegende Erfindung ist weiters auf radiomarkierte Verbindungen der Formel I gerichtet, wobei X oder A radioaktives Iod oder radioaktives Brom ist.

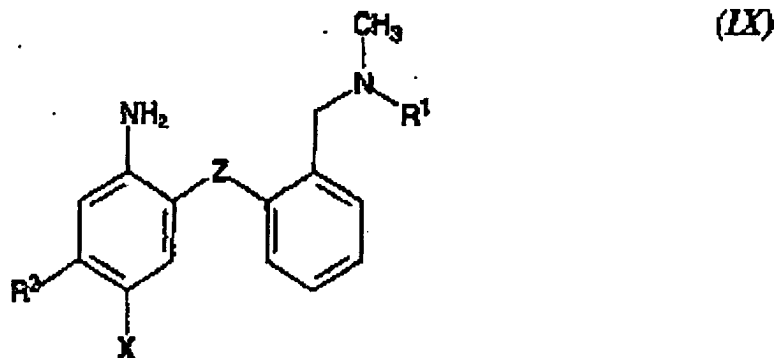
[0026] X kann ein radioaktives Isotop sein, das aus der Gruppe bestehend aus ¹²³I, ¹³¹I, ¹²⁵I, ⁷⁷Br und ⁷⁶Br ausgewählt ist.

[0027] A kann ein radioaktives Isotop sein, das aus der Gruppe bestehend aus ¹²³I, ¹³¹I, ¹²⁵I, ⁷⁷Br und ⁷⁶Br ausgewählt ist.

[0028] Die Verbindungen der Erfindung können die allgemeine Formel besitzen:

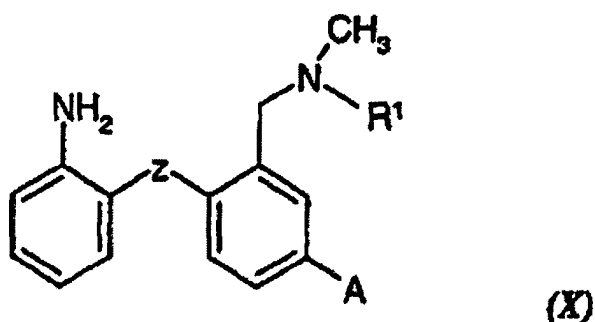


oder



oder ein pharmazeutisch akzeptables Salz derselben, wobei X, Z und R¹ und R² wie oben für Formel 1 definiert sind.

[0029] Die Verbindungen der Erfindung können die allgemeine Formel besitzen:



oder ein pharmazeutisch akzeptables Salz davon, wobei

A Br, I oder -L-Ch ist, wobei L und Ch wie oben für die Formel I definiert sind.

Z O, S, N(CH₃), C(O), C(=CH₂), oder CH₂ ist, vorzugsweise O, S oder CH₂; und

R¹ wie oben für die Formel I definiert ist.

A kann ¹²³I, ¹³¹I, ¹²⁵I, ⁷⁷Br und ⁷⁶Br sein, oder A kann -L-Ch sein, wobei Ch Formel II oder Formel V ist, und L eine kovalente Bindung oder eine C₁₋₂ Alkylengruppe ist.

[0030] Bevorzugte Verbindungen der Formel VIII schließen Verbindungen oder pharmazeutische akzeptable Salze davon ein, wobei

X I oder Br ist;

Z S, O, N(CH₃), C(O), C(=CH₂) oder CH₂, insbesondere S ist, und

R¹ Methyl ist.

[0031] X kann ¹²³I, ¹³¹I, ¹²⁵I, ⁷⁷Br oder ⁷⁶Br, am meist bevorzugt ¹²³I sein.

[0032] Alternativ können Verbindungen der Formel VIII Verbindungen oder pharmazeutisch akzeptable Salze davon einschließen, wobei

X ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus I, ¹²³I, ¹³¹I und ¹²⁵I;

Z-S- ist; und

R¹ Methyl ist.

[0033] Bevorzugte Verbindungen der Formel IX schließen Verbindungen oder pharmazeutisch akzeptable Salze davon ein, wobei

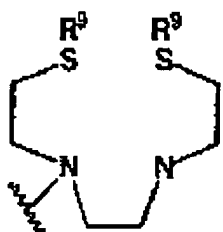
X Wasserstoff, I oder Br ist;

Z S ist, und

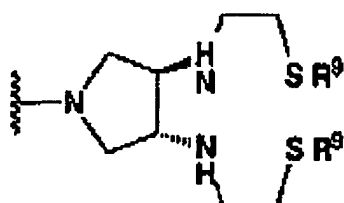
R¹ Wasserstoff oder Methyl ist.

[0034] X kann ¹²³I, ¹³¹I, ¹²⁵I, ⁷⁷Br oder ⁷⁶Br sein.

[0035] In den Verbindungen der vorliegenden Erfindung kann Ch aus der Gruppe ausgewählt sein, bestehend aus:

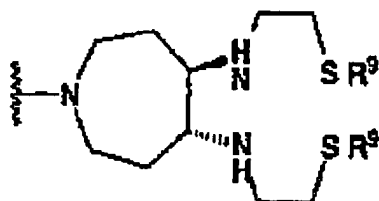


(II)



(III)

und



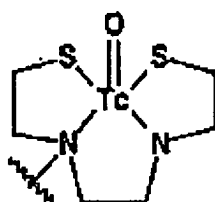
(IV).

wobei R⁹ eine Sulfhydryl-Schutzgruppe ist, die Wasserstoff, Methoxymethyl, Methoxyethoxymethyl, p-Methoxybenzyl oder Benzyl sein kann.

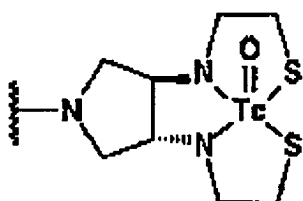
[0036] Die vorliegende Erfindung stellt ebenfalls einen radiopharmazeutischen Komplex bereit, der eine Ver-

bindung nach Anspruch 14 und radioaktives Metall aufweist, das ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Technetium-99m, Rhenium-186 und Rhenium-188 das daran koordinativ gebunden ist.

[0037] Die vorliegende Erfindung stellt weiters eine Technetium Chelat einer Verbindung gemäß des ersten Aspekts der Erfindung bereit, wobei Ch ausgewählt ist, aus der Gruppe bestehend aus:

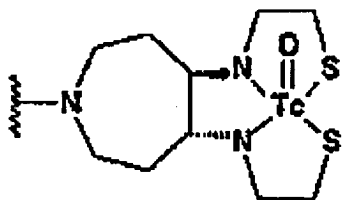


(V)



(VI)

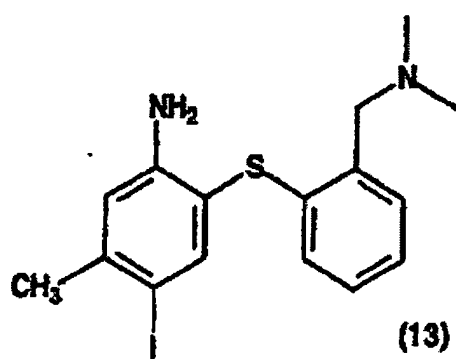
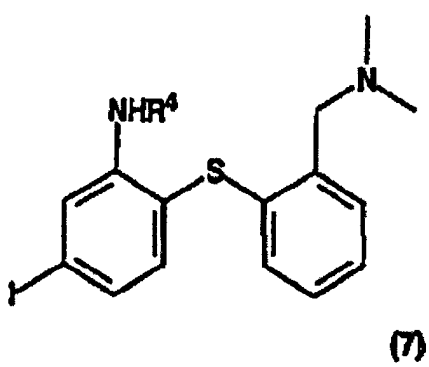
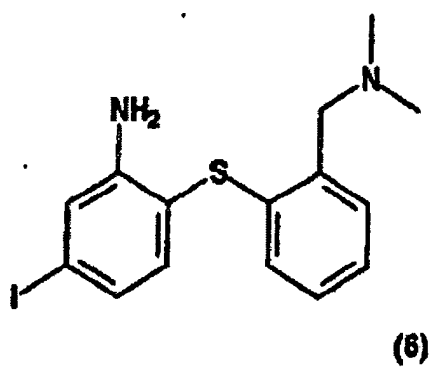
und

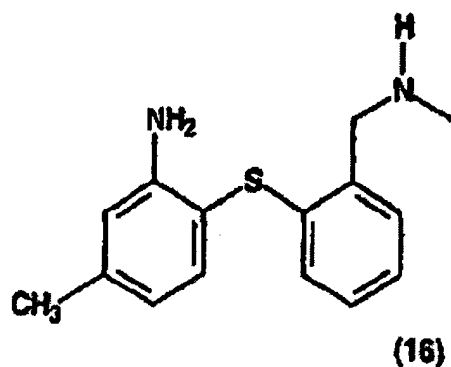
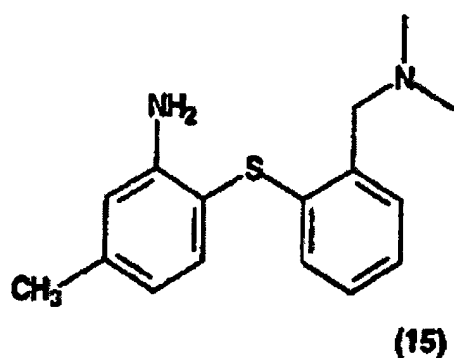
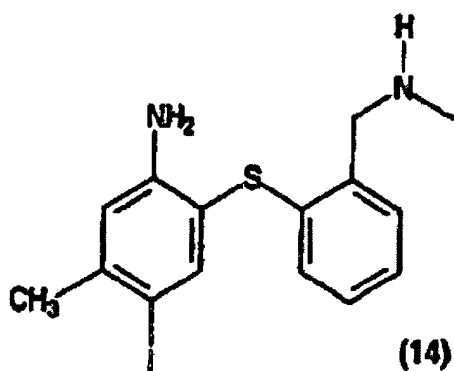


(VII).

[0038] In diesem Aspekt sind Verbindungen, die Ch-Liganden aufweisen, wie jene der Formeln II, III und IV, mit 99m-Per technetat komplexiert, wie hier beschrieben, um Metallchelate zu bilden.

[0039] Verbindungen der vorliegenden Erfindung schließen Verbindungen (6), (7), (13)–(16) unten ein, sowie die Verbindungen K109, K99026, K99028 in Tabelle 1A und 1B:



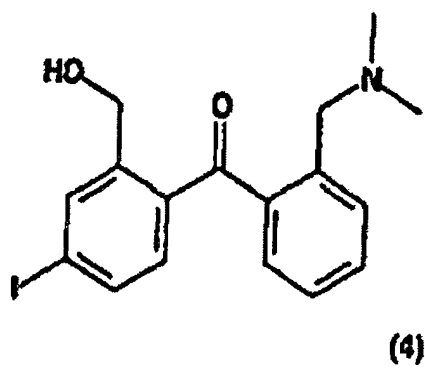
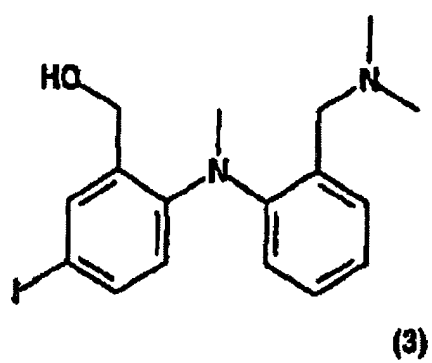
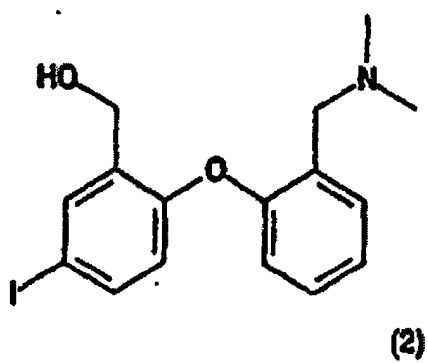
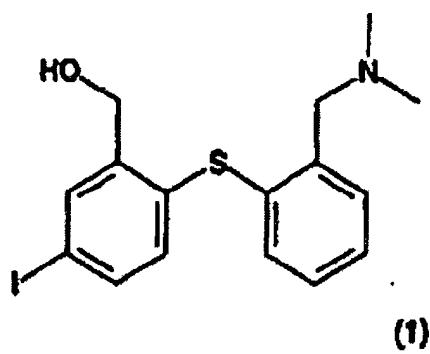


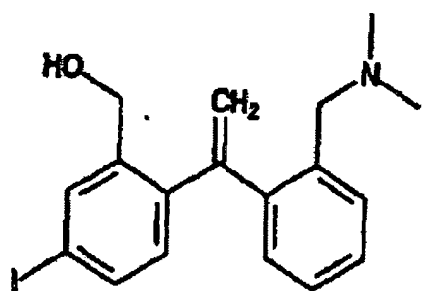
sowie Säureadditionssalze davon, wobei

R^4 wie oben definiert ist; und

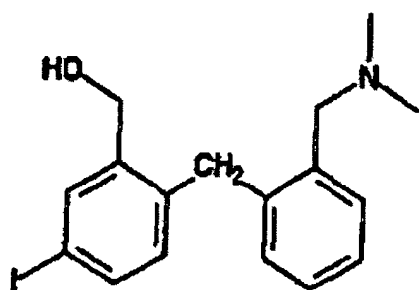
jedes I vorzugsweise ^{123}I , ^{131}I oder ^{125}I ist, und jedes Br vorzugsweise ^{77}Br oder ^{76}Br ist.

[0040] Die Verbindungen (1)–(5), (8)–(12) und (17)–(20) unten und die Verbindungen die in den Tabellen 1A und 1B aufgelistet sind, mit Ausnahme von K109, K99026, und K99028, [Fig. 6](#) und die Zielverbindungen des Schemas 9–13 sind nicht als Ausführungsformen der Erfindung dargestellt, sondern nur als Beispiele, die für das Verständnis der Erfindung nützlich sind.

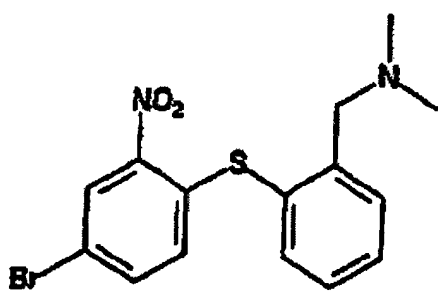




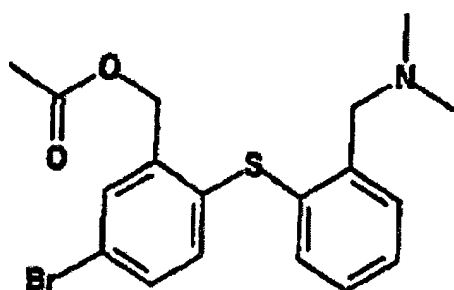
(5)



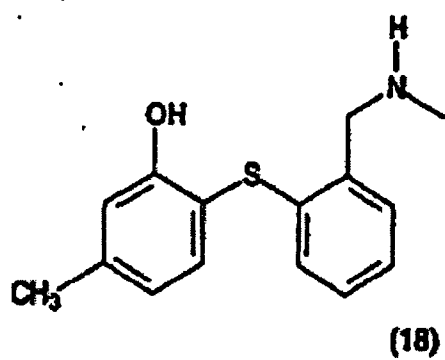
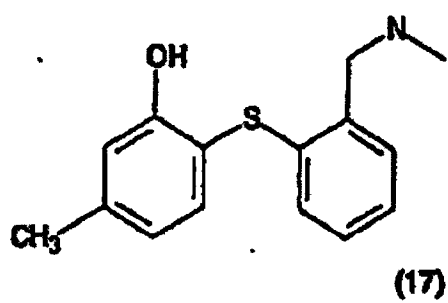
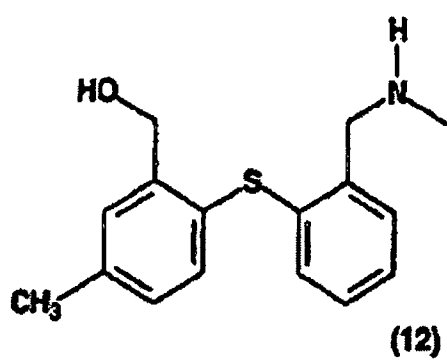
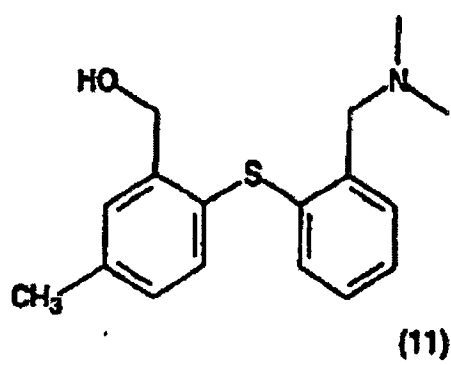
(8)

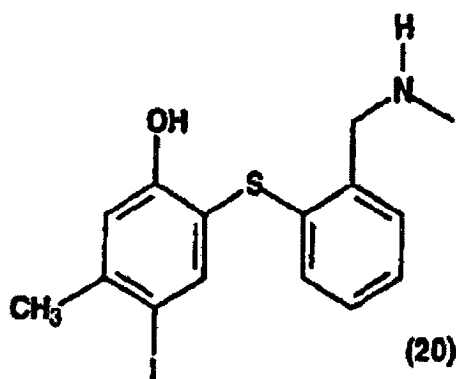
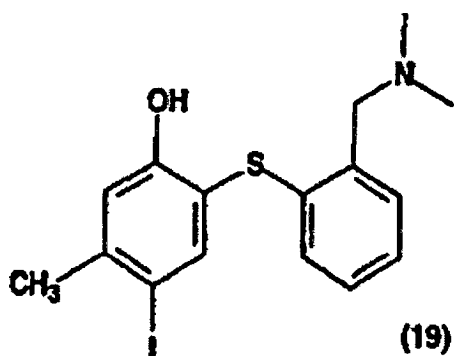


(9)



(10)





sowie Säureadditionssalze davon, wobei R^4 wie oben definiert ist; und jedes I vorzugsweise ^{123}I , ^{131}I oder ^{125}I ist, und jedes Br vorzugsweise ^{77}Br oder ^{76}Br ist.

[0041] Wenn die Verbindungen dieser Erfindung als Bildgebungsmittel verwendet werden sollen, dann müssen sie mit geeigneten radioaktiven Halogen-Isotopen markiert sein. Obwohl ^{125}I -Isotope für Laboruntersuchungen nützlich sind, sind sie für die aktuelle Diagnostik aufgrund der relativ langen Halbwertszeit (60 Tage) und niederen Gamma-Emission (30–65 Kev) von ^{125}I im Allgemeinen nicht nützlich. Das Isotop ^{123}I hat eine Halbwertszeit von dreizehn Stunden und eine Gamma-Energie von 159 KeV, und es wird deshalb erwartet, dass das Markieren der Liganden, die für diagnostische Zwecke verwendet werden, mit diesem Isotop erfolgen würde. Andere Isotope, die verwendet werden können, schließen ^{131}I (Halbwertszeit von 2 Stunden) ein. Geeignete Brom-Isotope schließen ^{77}Br und ^{76}Br ein.

[0042] Die radiohalogenierten Verbindungen dieser Erfindung eignen sich leicht für die Herstellung aus Materialien, welche den Anwendern in Ausrüstungssätzen bereitgestellt werden können. Ausrüstungssätze für das Herstellen von Bildgebungsmittel kann zum Beispiel eine Phiole enthalten, die eine physiologisch geeignete Lösung eines Zwischenproduktes der Formel I in einer Konzentration und bei einem pH, der für optimale komplexierende Bedingungen geeignet ist, aufweist. Der Anwender würde zu der Phiole eine angemessene Menge des Radioisotops, z. B., Na^{123}I , ein Oxidationsmittel, wie Wasserstoffperoxid hinzufügen. Der resultierende markierte Ligand kann dann intravenös einem Patienten verabreicht werden, und die Rezeptoren im Hirn können dann durch das Messen der Gamma-Strahlung oder Photoemission davon abgebildet werden.

[0043] Pharmazeutisch akzeptable Salze der Verbindungen dieser Erfindung schließen die Säureadditionssalze, die von nicht-toxischen anorganischen Säuren, wie Salzsäure, Salpetersäure, Phosphorsäure, Schwefelsäure, Bromwasserstoffsäure, Iodwasserstoffsäure, phosphorige Säure und dergleichen abgeleitet sind, ein. Ebenfalls eingeschlossen sind jene Salze, die von nicht-toxischen organischen Säuren abgeleitet sind, wie aliphatische Mono- und Dicarbonsäuren, zum Beispiel Essigsäure, Phenyl-substituierte Alkansäuren, Hydroxyalkan- und Alkandisäuren, aromatische Säuren, und aliphatische und aromatische Sulfonsäuren.

[0044] Zu Beispielen von nützlichen organischen Säuren zählen Carbonsäuren, wie Maleinsäure, Essigsäure, Weinsäure, Propionsäure, Fumarsäure, Isäthionsäure, Bernsteinsäure, Cylamsäure, Pivalinsäure und der-

gleichen, nützliche anorganische Säuren sind Halogenwasserstoffsäuren, wie HCl, HBr, HI, Schwefelsäure, Phosphorsäure und dergleichen. Zu bevorzugten Säuren für das Bilden von Säureadditionsalzen zählen HCl und Essigsäure.

[0045] Der Ausdruck „Alkyl“ wie er hierin an sich oder als Teil einer anderen Gruppe verwendet wird, bezieht sich sowohl auf gerade als auch auf verzweigte Kettenradikale mit bis zu 8 Kohlenstoffen, wie Methyl, Ethyl, Propyl, Isopropyl, Butyl, t-Butyl, Isobutyl, Pentyl, Hexyl, Isohexyl, Heptyl, und Octyl.

[0046] In Ausführungsformen, wo eines von X , R^1 , R^3 , R^4 , R^5 oder R^6 -L-Ch ist, sind die Gruppen R^9 beide Wasserstoff, oder können eine beliebige von einer Vielzahl von Schutzgruppen sein, die für Schwefel erhältlich sind, einschließlich Methoxymethyl, Methoxyethoxymethyl, p-Methoxybenzyl oder Benzyl. Schwefel-Schutzgruppen sind im Detail in Greene, T. W. and Wuts, P.G.M., Protective Groups in Organic Synthesis, 2nd Edition, John Wiley and Sons, Inc. New York (1991) beschrieben. Schutzgruppe P^a kann durch geeignete Verfahren, die im Fachgebiet der organischen Synthese bekannt sind, wie Trifluoressigsäure, Quecksilber-chlorid oder Natrium in flüssigem Ammoniak, entfernt werden. Im Fall von Lewisäure labilen Gruppen, einschließlich Acetoamidomethyl und Benzamidomethyl, kann R^9 intakt bleiben. In diesem Fall wird das Markieren des Liganden mit Technetium die Schutzgruppe spalten, wodurch das geschützte Diaminedithiol gleichwertig zu der ungeschützten Form wird.

[0047] Die Tc-99m Komplexe werden wie Folgt hergestellt. Eine kleine Menge an nicht-radiomarkierter Verbindung (1–2 mg) wird in 100 μ l EtOH aufgelöst und mit 200 μ l HCl (1N) und 1 ml Sn-Glucoheptonat-Lösung (enthält 8–32 μ g $SnCl_2$ und 80–320 μ g Na-Glucoheptonat, pH 6,67) und 50 μ l EDTA-Lösung (0,1 N) gemischt. [^{99m}Tc]Pertechnetat (100–200 μ l; im Bereich von 2–20mCi)-Salzlösung wird dann hinzugefügt. Die Reaktion wird für 30 Minuten bei 100 °C erwärmt, dann auf Raumtemperatur abgekühlt. Die Reaktionsmischung wird dann mittels Dünnschichtchromatographie (TLC: thin layer chromatography) (EtOH:conc. NH_3 = 9:1) auf Produktbildung und Reinheit analysiert. Die Mischung kann mit Phosphatpuffer auf pH 5,0 neutralisiert werden.

[0048] Das radioaktive Diagnostikum sollte eine ausreichende Radioaktivität und eine Radioaktivitätskonzentration aufweisen, die eine zuverlässige Diagnose gewährleistet. Falls zum Beispiel Technetium-99m das radioaktive Metall ist, kann es im Allgemeinen in einer Menge von 0,1 bis 50 mCi in etwa 0,5 bis 5,0 ml zu dem Zeitpunkt der Verabreichung enthalten sein. Die Menge der Verbindung der Formel I kann so sein, dass sie ausreicht eine stabile Chelatverbindung mit dem radioaktiven Metall zu bilden.

[0049] Die so gebildete Chelatverbindung als ein radioaktives Diagnostikum ist ausreichend stabil, und kann deshalb unmittelbar als solches verabreicht oder bis zu seiner Verwendung gelagert werden. Wenn gewünscht kann das radioaktive Diagnostikum jeglichen Zusatz enthalten, wie pH-kontrollierende Mittel (z.B., Säuren, Basen, Puffer), Stabilisatoren (z.B., Ascorbinsäure) oder Isotonisierungsmittel (z.B. Natriumchlorid).

[0050] Die vorliegende Erfindung betrifft weiters Verfahren zum Herstellen eines Technetium-99m-Komplexes gemäß der vorliegenden Erfindung durch Reagieren von Technetium-99m in der Form von Pertechnetat in der Gegenwart eines Reduktionsmittels und gegebenenfalls eines geeigneten Chelators mit einer geeigneten Ch-enthaltenden Verbindung.

[0051] Das Reduktionsmittel dient dazu, das Tc-99m Pertechnetat, das aus einem Molybdän-Technetium-Generator in einer physiologischen Salzlösung eluiert wird zu reduzieren. Geeignete Reduktionsmittel sind, zum Beispiel, Dithionit, Formamidin-Sulfinsäure, Diaminoethandisulfinat oder geeignete metallische Reduktionsmittel wie Sn(II), Fe(II), Cu(I), Ti(III) oder Sb(III). Sn(II) hat sich als besonders nützlich erwiesen.

[0052] Für die oben erwähnte Komplex-bildende Reaktion, wird Technetium-99m mit einer geeigneten Verbindung der Erfindung als ein Salz oder in der Form von Technetium, welches an einen vergleichsweise schwachen Chelator gebunden ist, reagiert. Im letzteren Fall wird der gewünschte Technetium-99m Komplex durch Ligandenaustausch gebildet.

[0053] Beispiele geeigneter Chelatoren für die Radionuklide sind Dicarbonsäuren, wie Oxalsäure, Malonsäure, Bernsteinsäure, Maleinsäure, ortho-Phthalsäure, Apfelsäure, Milchsäure, Weinsäure, Zitronensäure, Ascorbinsäure, Salizylsäure oder Derivate dieser Säuren; Phosphor-Verbindungen wie Pyrophosphate; oder Enolate. Zitronensäure, Weinsäure, Ascorbinsäure, Glucoheptonsäure oder Derivate davon sind für diesen Zweck besonders geeignete Chelatoren, da ein Chelat von Technetium-99m mit einem von diesen Chelatoren den gewünschten Ligandenaustausch besonders leicht erfährt.

[0054] Das am meisten verwendete Verfahren zum Herstellen von $[\text{Tc}^{\text{VO}}]^{+3}\text{N}_2\text{S}_2$ -Komplexen basiert auf der Zinn(II)chlorid-Reduktion von $[\text{Tc}^{99\text{m}}]\text{Pertechnetat}$, dem gewöhnlichen Ausgangsmaterial. Das Markierungsverfahren beruht normalerweise auf einer Tc-99m-Ligandenaustauschreaktion zwischen Tc-99m (Sn)-Glucoheptonat und dem N_2S_2 -Ligand. Die Zubereitung des Zinn(II)chlorids und das Bewahren in einer beständigen Zinn(II)-Form ist für den Erfolg der Markierungsreaktion von entscheidender Bedeutung. Um das luftempfindliche Zinn-Ion zu stabilisieren ist es in der Nuklearmedizin üblich einen lyophilisierten Satz zu verwenden, in welchem das Zinn-Ion in einer lyophilisierten Pulverform, welches mit einer überschüssigen Menge an Glucoheptonat unter einem inerten Gas wie Stickstoff oder Argon gemischt ist, vorhanden ist. Die Zubereitung der lyophilisierten Zinnchlorid/Natriumglucoheptonat-Sätzen stellt sicher, dass die Markierungsreaktion reproduzierbar und vorhersehbar ist. Die N_2S_2 -Liganden sind üblicherweise luftempfindlich (Thiole werden leicht durch Luft oxidiert) und es gibt nachfolgende Reaktionen, die zu einem Abbau des Liganden führen. Das am besten geeignete und vorhersehbare Verfahren, um die Liganden zu konservieren, ist lyophilisierte Sätze zu erzeugen, die 100–500 µg des Liganden unter Argon oder Stickstoff enthalten.

[0055] Da die radiopharmazeutische Zusammensetzung gemäß der vorliegenden Erfindung leicht und einfach zubereitet werden kann, kann die Zubereitung leicht durch den Anwender durchgeführt werden. Die vorliegende Erfindung betrifft deshalb auch einen Satz, der Folgendes aufweist:

- (1) eine nicht-radiomarkierte Verbindung der Erfindung, wobei die Verbindung gegebenenfalls in einem trockenen Zustand befindet, und gegebenenfalls einen inerten, pharmazeutisch akzeptablen Träger und/oder Hilfsstoffe dazu hinzugefügt aufweist; und
 - (2) ein Reduktionsmittel und gegebenenfalls einen Chelator;
- wobei die Bestandteile (1) und (2) gegebenenfalls kombiniert werden können; und wobei weiters Anleitungen für die Verwendung mit einer Verschreibung für das Ausführen des oben erwähnten Verfahrens durch Reagieren der Bestandteile (1) und (2) mit Technetium-99m in der Form einer Pertechnetat-Lösung gegebenfalls beigeschlossen sein kann.

[0056] Geeignete Reduktionsmittel und Chelatoren für den obigen Satz sind oben aufgelistet. Die Pertechnetat-Lösung kann von einem Anwender von einem Molybdän-Technetium-Generator erhalten werden. Solche Generatoren sind in einer Vielzahl von Institutionen, die radiodiagnostische Prozeduren durchführen, erhältlich. Wie oben erwähnt, können die Bestandteile (1) und (2) kombiniert werden, unter Voraussetzung, dass sie kompatibel sind. Ein solcher Einzelkomponentensatz, in welchem die kombinierten Bestandteile bevorzugt lyophilisiert sind, ist vorzüglich geeignet, um auf eine einfache Art mit der Pertechnetat-Lösung durch den Anwender reagiert zu werden.

[0057] Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung stellt ein Szintigraphieverfahren bereit, welches aufweist:

- i) Verabreichung einer wirksamen Menge einer radiopharmazeutischen Zusammensetzung an ein Säugetier, wobei die Zusammensetzung eine radiopharmazeutische Verbindung nach Anspruch 4 und ein(en) pharmazeutisch akzeptablen/es Träger oder Verdünnungsmittel aufweist, und
- ii) Szintigraphische Bilderzeugung von dem Säugetier nachdem der Zusammensetzung ausreichend Zeit gegeben wurde, um sich im Gewebe des Säugetiers zu lokalisieren.

[0058] Ein noch weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung stellt ein Szintigraphieverfahren bereit, welches aufweist:

- i) Verabreichung einer wirksamen Menge einer radiopharmazeutischen Zusammensetzung an ein Säugetier, wobei die Zusammensetzung eine radiopharmazeutische Verbindung nach Anspruch 6 und einen) pharmazeutisch akzeptablen/es Träger oder Verdünnungsmittel aufweist, und
- ii) Szintigraphische Bilderzeugung von dem Säugetier nachdem der Zusammensetzung ausreichend Zeit gegeben wurde, um sich im Gewebe des Säugetiers zu lokalisieren.

[0059] Ein noch weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung stellt ein Szintigraphieverfahren bereit, welches aufweist:

- i) Verabreichung einer wirksamen Menge einer radiopharmazeutischen Zusammensetzung an ein Säugetier, wobei die Zusammensetzung eine Technetium-Verbindung nach Anspruch 16 und einen) pharmazeutisch akzeptablen/es Träger oder Verdünnungsmittel aufweist, und
- ii) Szintigraphische Bilderzeugung von dem Säugetier nachdem der Zusammensetzung ausreichend Zeit gegeben wurde, um sich im Gewebe des Säugetiers zu lokalisieren.

[0060] Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung stellt ein Szintigraphieverfahren bereit, welches aufweist:

- i) Verabreichung einer wirksamen Menge einer radiopharmazeutischen Zusammensetzung an ein Säugetier, wobei die Zusammensetzung eine radiopharmazeutische Verbindung nach Anspruch 13 und einen pharmazeutisch akzeptablen/es Träger oder Verdünnungsmittel aufweist, und
- ii) Szintigraphische Bilderzeugung von dem Säugetier nachdem der Zusammensetzung ausreichend Zeit gegeben wurde, um sich im Gewebe des Säugetiers zu lokalisieren.

Verfahren zum Herstellen

[0061] Diphenylsulfid-Verbindungen der vorliegenden Erfindung können unter Verwendung von Verfahren, die zu jenen in Ferris, R. M. et al., J. Pharma. Pharmacol. 47: 775–781 (1995); Brieady, L.E., „Substituted diphenylsulfides as serotonin uptake inhibitors,” veröffentlichte Internationale Patentanmeldung Nr. WO 93/12080 (1993); und Mehta, N. B. et al., „Halogen substituted diphenylsulfides”, veröffentlichte Europäische Patentanmeldung EP 402.097 A1 (1990) beschriebenen analog sind, synthetisiert werden.

[0062] Zusätzlich können die Verbindungen der Erfindung durch die folgenden Verfahren, die in den Schemas am Ende der detaillierten Beschreibung dargestellt sind, gebildet werden. Die Schemas 1–4, 7–13 sind nicht als Ausführungsformen der Erfindung bereitgestellt, sondern als Beispiele die für das Verständnis der Erfindung nützlich sind.

[0063] Schema 1 stellt ein Synthese-Verfahren für das Bilden von IDAM dar.

[0064] Schema 2 stellt ein Synthese-Verfahren zum Bilden von Verbindungen dar, wobei $Y-CH_2$ ist, OR^5 und R^5 verschiedene niedere Alkyl-Gruppen sind.

[0065] Schema 3 stellt ein Synthese-Verfahren zum Bilden von Verbindungen dar, wobei R^1 verschiedene niedere Alkyl-Gruppen sein kann.

[0066] Schema 4 stellt ein Synthese-Verfahren zum Bilden von Verbindungen dar, wobei Z Sauerstoff ist, wie ODAM.

[0067] Schemas 5 und 6 stellen Synthesewege für das Herstellen von Verbindungen der Erfindung dar, wobei $Y-NR^3R^4$ ist.

[0068] Schema 7 stellt ein Syntheseweg für das Herstellen von Verbindungen dar, wobei Y L-Ch ist, wobei L eine Bindung ist und Ch die Formel II ist.

[0069] Schema 8 stellt Syntheseschritte für das Herstellen von Verbindung mit verschiedenen Gruppen an der R^1 -Position dar.

[0070] Schemas 9, 10 und 11 stellen ein Syntheseverfahren für das Herstellen von Verbindungen dar, wobei $Z-CH_2-$ ist, A Iod ist, und Y Wasserstoff, Dimethylaminomethyl oder Hydroxymethyl, wie CARDAM1, CARDAM2 und CARDAM5X ist.

[0071] Schema 12 stellt ein Syntheseverfahren für das Herstellen von Verbindungen dar, wobei Z NH ist und eines von A oder X Iod ist.

[0072] Schema 13 stellt ein Syntheseverfahren für das Herstellen von Verbindungen dar, wobei X – L-Ch ist, wobei L eine Bindung und Ch die Formel II oder V ist.

[0073] Experimentell: Protonen NMR-Spektren wurden auf einem Bruker 200-Spektrometer ausgeführt. Die chemischen Verschiebungen (δ) sind Tieffeld-verschoben vom Tetramethylsilan-Standard in ppm angegeben; $CDCl_3$ oder CD_3OD wurden als Lösungsmittel benutzt. Die Massenspektren wurden am Department of Chemistry, University of Pennsylvania durchgeführt.

Beispiel 1

5-Iod-2-[[2-2[(Dimethylamino)methyl]phenyl]thio]benzyl-Alkohol (IDAM) und (5-Brom-2-[[2-2[(Dimethylamino)methyl]phenyl]thio]benzylalkohol)

[0074] Die Synthese von 5-Iod-2-[[2-2[(Dimethylamino)methyl]phenyl]thio]benzylalkohol (IDAM) und seiner

Brom-Derivate (5-Brom-2-[[2-2[(Dimethylamino)methyl]phenyl]thio]benzyl-alkohol) wurde durch die in Schema 1 umrissene Reaktionssequenz, das auf Seite 49 dieser Anmeldung gezeigt ist, erhalten. Die direkte Kopplung von 2,5 Dibrombenzoesäure (Frazer, A., J. Clin. Psychiatry, 6: 9–25 (1997)) oder 2,5-Diodobenzoessäure (Mathis, C. A., et al., J. Nucl. Med. 33: 890 (1992)) mit 2-Thio-N,N-dimethylbenzamid (Wong, D. T. et al., Adv. Exp. Med. & Biol., 363: 77–95 (1995)) wurde in N,N-Dimethylacetamid (DMAC) mit Natriummethoxid durchgeführt, um die gewünschten Verbindungen in guter Ausbeute zu erhalten (59 bzw. 44 % für 23 bzw. 28). Eine gute Kopplungs-Ausbeute wurde nur dann erreicht, wenn 2-Thio-N,N-dimethylbenzamid frisch zubereitet wurde. Dies kann aufgrund der Tatsache sein, dass das freie Thiol von 22 bei einem längeren Stehen bei Raumtemperatur nicht stabil ist. Die Brom-Verbindung wurde in das entsprechende tri-n-Butylzinn-Derivat (Maryanoff, E.M. et al., J. Med. Chem. 33: 2793–2797 (1990)) durch eine Tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0)-katalysierte Reaktion mit guter Ausbeute (66%) umgewandelt. Das Zinn-Derivat wurde erfolgreich in IDAM mit einer exzellenten Ausbeute (97%) umgewandelt, oder alternativ, wurde 2-((4-Iod-2-carboxyphenyl)thio)-N,N-dimethylbenzamid (Mathis, C.A. et al., Eur. J. Pharmacol. 210: 103–104 (1992)) zu IDAM mit einer Ausbeute von 66% reduziert.

Beispiel 2

Radioiodierung von 5-Iod-2-[[2-2[(Dimethylamino)methyl]phenyl]thio]benzylalkohol

[0075] Die Radioiodierung wurde durch eine Iodo-Destannylierungsreaktion durchgeführt (Maryanoff, E.M. et al., J. Med. Chem. 33: 2793–2797 (1990)). IDAM wurde mit Bis(tributylzinn) und Pd(PPh₃)₄ behandelt (siehe Beispiel 4, Schritt (1)). Das stannylierte Zwischenprodukt wurde mit radioaktivem Natriumiodid (I-125 oder I-123) in der Gegenwart von Wasserstoffperoxid reagiert. Das endgültige [¹²⁵I] oder [¹²³I]IDAM wurde unter Verwendung des HPLC Verfahrens gereinigt (Reinheit > 99%, Rt = 11,38 Minuten, PRP-1 Säule, eluiert mit 1 ml/min, mit einer 80:20 Mischung aus Acetonitril und 3,3-Dimethylglutarsäure-Puffer, pH 7,4),

[0076] Der radioiodierte Ligand, [¹²⁵I] oder [¹²³I]IDAM (26, Schema 1), wurde erfolgreich aus dem entsprechenden Tributylzinn-Derivat durch eine Iodo-Destannylierungsreaktion zubereitet, welches in einem trägerfreien Tracer resultiert. (spezifische Aktivität ist mit Na¹²⁵I; oder Na¹²³I vergleichbar). Die radiochemische Identität des radioiodierten Liganden wurde durch Co-Injektion der nicht-radioaktiven Verbindung, IDAM, welches eine identische Retentionszeit von 7 Minuten in den HPLC-Profilen zeigt, verifiziert. Es ist gezeigt worden, dass [¹²⁵I]IDAM in 50 % Ethanol bis zu zwei Monate nach der Radioiodierung stabil ist (> 95% radiochemische Reinheit, bestimmt durch HPLC). [¹²³I]IDAM zeigte eine exzellente in vitro Stabilität mit keinem beobachteten Abbau bei längerem Stehen (>20 Stunden) bei 0–4°C in Salzlösung.

Beispiel 3

5-Iod-2-(2-Dimethylaminomethylphenoxy)benzylalkohol

[0077] Methyl, 5-Nitro-2-(2-methylphenoxy)-benzoesäure (34). Zu einer Lösung von 2-Chlor-5-Nitrobenzoesäure 31 (4,04 g, 20 mmol) in Nitrobenzen (20 ml) wurde K₂CO₃ (4,14 g, 3eq) gefolgt von Cu (0,2 g) und CuI (0,2 g) bei 70–80 °C hinzugefügt. Die Mischung wurde bei 80 °C für 10 Minuten gerührt. O-Cresol (4,32 g, 2eq) wurde hinzugefügt und die Mischung wurde über Nacht bei 155 °C gerührt. NaOH-Lösung (1M, 30 mL) wurde hinzugefügt, nachdem die Mischung abgekühlt war und der dunkle Schlamm wurde mit Ether extrahiert, um Nitrobenzen zu entfernen. Die wässrige Phase wurde filtriert und mit HCl angesäuert. Die resultierende Mischung wurde mit einem gemischten Lösungsmittel (CH₂Cl₂:MeOH = 9:1) extrahiert. Die organische Phase wurde getrocknet, filtriert, und konzentriert, um einen Teer (4,6 g) zu erhalten. Zu der oben erhaltenen Teer-Lösung in MeOH (100 ml) wurde konzentrierte H₂SO₄ (2ml) tropfenweise bei Raumtemperatur hinzugefügt und die Mischung wurde unter Rückfluss über Nacht gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und Eiswasser wurde hinzugefügt. Die Mischung wurde mit einer KOH-Lösung basisch gemacht und mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die organische Phase wurde getrocknet, filtriert und konzentriert, um das Rohprodukt zu erhalten, welches durch Chromatographie (Flash 40) (EtOAc:Hex = 1:10) gereinigt wurde, um 720 mg des Produktes und 2,5 g der Mischung (Produkt und Nebenprodukte) zu erhalten. ¹H NMR (CDCl₃, δ): 2,19 (s, 3H, ArCH₃), 3,96 (s, 3H, COOCH₃), 6,73 (d, 1H, J = 9,2 Hz, ArH), 7,00 (d,d, 1H, J = 7,4, 1,8 Hz, ArH), 7,15–7,34 (m, 3H, ArH), 8,23 (d,d, 1H, J = 7,5, 1,8 Hz, ArH), 8,79 (d, 1H, J = 2,8 Hz, ArH).

[0078] Methyl, 5-Nitro-2-(2-bromomethylphenoxy)-benzoesäure (35). Zu einer Lösung des Ausgangsmaterials 34 (720 mg, 2,5 mmol) in CCl₄ (20 ml) wurde NBS (491 mg, 1eq) und AIBN (40 mg, 0,24 mmol) hinzugefügt. Die Mischung wurde über Nacht unter Rückfluss gerührt. Die kalte Lösung wurde filtriert und das Lösungsmittel wurde entfernt, um ein Öl zu erhalten, welches durch Chromatographie (Flash 40) (EtOAc:Hex = 1:10) gerei-

nigt wurde, um 130 mg des Produktes und 710 mg der Mischung (Produkt und Nebenprodukte) zu erhalten. ^1H NMR (CDCl_3 , δ): 3,94 (s, 3H, COOCH_3), 4,56 (s, 2H, NCH_2), 6,95 (d, 2H, $J = 9,1$ Hz, ArH), 7,24 (t, d, 1H, $J = 7,4$, 1,1 Hz, ArH), 7,36 (t, d, 1H, $J = 7,6$, 1,7 Hz, ArH), 7,52 (d, d, 1H, $J = 7,4$, 1,7 Hz, ArH), 8,25 (d, d, 1H, $J = 9,2$, 2,8 Hz, ArH), 8,81 (d, 1H, $J = 2,8$, 1,1 Hz, ArH).

[0079] Methyl, 5-Nitro-2-(2-dimethylaminomethylphenoxy)-Benzoessäure (36). Zu einer Lösung des Ausgangsmaterials 35 (300 mg, 0,82 mmol) in Acetonitril (10 ml) wurde Diemthylamin (5 ml, 2M in THF) und Triethylamin (1 ml) tropfenweise bei Raumtemperatur hinzugefügt. Die Mischung wurde über Nacht unter Rückfluss gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und der Rückstand durch präparative Dünnschichtchromatographie (PTLC) (CH_2Cl_2 :MeOH = 9:1) gereinigt, um 148 mg Produkt zu erhalten. ^1H NMR (CDCl_3 , δ): 2,15 (s, 6H, NCH_3), 3,39 (s, 2H, NCH_2), 3,92 (s, 3H, COOCH_3), 6,73 (d, 1H, $J = 9,2$ Hz, ArH), 6,97 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz, ArH), 7,24 (t, d, 1H, $J = 7,0$, 1,1 Hz, ArH), 7,30 (t, d, 1H, $J = 7,3$, 1,7 Hz, ArH), 7,52 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz, ArH), 8,16 (d, d, d, 1H, $J = 9,2$, 2,8, 1,1 Hz, ArH), 8,75 (d, d, 1H, $J = 2,8$, 1,0 Hz, ArH), HRMS berechnet ($\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_5$): M/Z 331,1294 ($\text{M}^+ + 1$); Gefunden: M/Z 331,1301 ($\text{M}^+ + 1$).

[0080] Methyl, 5-Amino-2-(2-dimethylaminomethylphenoxy)-Benzoessäure (37). Eine Mischung des Ausgangsmaterials 36 (225 mg, 0,68 mmol) und Pd/C (50 mg) in gemischtem Lösungsmittel (30 ml, MeOH:EtOAc = 1:19) wurde bei etwa 3,4 bar (50 psi) und Raumtemperatur für 2 Stunden hydriert. Die Mischung wurde filtriert und das Filtrat wurde konzentriert, um das Rohprodukt zu ergeben, welches mittels PTLC (CH_2Cl_2 :MeOH = 9:1) gereinigt wurde, um 220 mg des Produktes zu ergeben. ^1H NMR (CDCl_3 , δ): 2,67 (s, 6H, NCH_3), 3,70 (s, 2H, COOCH_3), 4,15 (s, 2H, NCH_2), 6,59 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz, ArH), 6,84 (d, 2H, $J = 1,6$ Hz, ArH), 7,04 (t, 1H, $J = 7,4$ Hz, ArH), 7,17 (d, d, 1H, $J = 7,7$, 1,6 Hz, ArH), 7,24 (t, 1H, $J = 1,1$ Hz, ArH), 7,64 (d, d, 1H, $J = 7,4$, 1,5 Hz, ArH), HRMS berechnet ($\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3$): M/Z 301,1552 ($\text{M}^+ + 1$); Gefunden: M/Z 301,1549 ($\text{M}^+ + 1$).

[0081] 5-Amino-2-(2-dimethylaminomethylphenoxy)-Benzylalkohol (38). Zu einer Suspension von LAH (240 mg, 6,3 mmol) in THF (20 ml) wurde tropfenweise eine Lösung des Ausgangsmaterials 37 (410 mg, 1,4 mmol) bei Raumtemperatur hinzugefügt. Die Mischung wurde bei Raumtemperatur für 1 Stunde gerührt. 0,2 mL Wasser, 0,2 ml NaOH-Lösung (1M) und 0,6 ml Wasser wurde tropfenweise nacheinander hinzugefügt um die Lösung abzuschrecken. Die Mischung wurde filtriert und mit gemischtem Lösungsmittel (CH_2Cl_2 :MeOH = 9:1) gewaschen. Das Filtrat wurde konzentriert und der Rückstand mittels PTLC (CH_2Cl_2 :MeOH: NH_4OH = 9:1:0,1) gereinigt, um 280 mg des Produktes zu ergeben. ^1H NMR (CD_3OD , δ): 2,26 (s, 6H, NCH_3), 3,58 (s, 2H, NCH_2), 4,33 (s, 2H, HOCH_2), 6,58 (d, d, 1H, $J = 8,1$, 1,0 Hz, ArH), 6,67 (d, d, 1H, $J = 8,5$, 2,6 Hz, ArH), 6,74 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, ArH), 6,82 (d, 1H, $J = 2,5$ Hz, ArH), 6,96 (t, d, 1H, $J = 7,4$, 1,2 Hz, ArH), 7,14 (t, d, 1H, $J = 8,0$, 1,8 Hz, ArH), 7,29 (d, d, 1H, $J = 7,4$, 1,7 Hz, ArH), HRMS berechnet ($\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2$): M/Z 273,1603 ($\text{M}^+ + 1$); Gefunden: M/Z 273,1603 ($\text{M}^+ + 1$).

[0082] 5-Iodo-2-(2-dimethylaminomethylphenoxy)-Benzylalkohol (39). Zu einer Mischung des Ausgangsmaterials 38 (250 mg, 0,92 mmol), Eis (3,6 g) und konzentrierte HCl (2,4 ml) wurde eine Lösung von NaNO_2 9360 mg) in Wasser (4,5 ml) tropfenweise bei 0 °C in einem Eisbad hinzugefügt. Die Mischung wurde bei 0 °C für 30 Minuten gerührt. Die resultierende Mischung wurde einer Lösung von KI (2,1 g) in Wasser (15 ml) tropfenweise bei 0 °C hinzugefügt und die resultierende Mischung wurde bei Raumtemperatur für 30 Minuten gerührt. Die Mischung wurde mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung basisch gemacht und mit einem gemischten Lösungsmittel (CH_2Cl_2 :MeOH = 9:1) extrahiert. Die organische Phase wurde getrocknet, filtriert und konzentriert, um das Rohprodukt zu ergeben, welches durch PTLC (CH_2Cl_2 :MeOH = 9:1) gereinigt wurde, um 108 mg des Produktes zu erhalten. ^1H NMR (CDCl_3 , δ): 2,25 (s, 6H, NCH_3), 3,49 (s, 2H, NCH_2), 4,29 (s, 2H, HOCH_2), 6,67 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, ArH), 6,77 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz, ArH), 7,02 (t, 1H, $J = 7,5$ Hz, ArH), 7,19 (d, d, 1H, $J = 7,9$, 1,2 Hz, ArH), 7,24 (d, 1H, $J = 7,2$ Hz, ArH), 7,59 (d, d, 1H, $J = 8,4$, 1,7 Hz, ArH), 7,63 (s, 1H, ArH), HRMS berechnet ($\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{INO}_2$): M/Z 384,0461 ($\text{M}^+ + 1$); Gefunden: M/Z 384,0472 ($\text{M}^+ + 1$).

Beispiel 4

Radioiodierung von ODAM

[0083] 5-Tributylstannyl-2-(2-dimethylaminomethylphenoxy)-benzylalkohol (40). Eine Mischung des Ausgangsmaterials 39 (30 mg, 0,08 mmol), Bistriethylzinn (0,2 ml) und $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (10 mg) in gemischtem Lösungsmittel (2 ml, Et_3N :Dioxan = 1:1) wurde bei 90 °C über Nacht gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und der Rückstand wurde durch PTLC (CH_2Cl_2 :MeOH = 9:1) gereinigt, um 12 mg des Produktes zu erhalten. ^1H NMR (CDCl_3 , δ): 0,85–1,69 (m, 27H, SnBu_3), 2,25 (s, 6H, NCH_3), 3,50 (s, 2H, NCH_2), 4,35 (s, 2H, HOCH_2), 6,69 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz, ArH), 6,96 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz, ArH), 7,00 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, ArH), 7,17 (d, d, 1H, $J = 7,7$, 1,8 Hz, ArH), 7,22 (d, d, 1H, $J = 7,2$, 1,5 Hz, ArH), 7,37 (s, 1H, ArH), 7,39 (d, d, 1H, $J = 7,5$, 1,2 Hz, ArH), HRMS berech-

net ($C_{28}H_{45}NO_2Sn$): M/Z 548,2550 ($M^+ + 1$); Gefunden: M/Z 548,2548 ($M^+ + 1$).

[0084] 5-[123-Iodo oder 125-Iodo]-2-(2-dimethylaminomethylphenoxy)-benzylalkohol. Die Radioiodierung wurde durch Iodo-Destannylierung durchgeführt. ODAM wurde mit radioaktivem Natriumiodid (I-125 oder I-123) in der Gegenwart von Wasserstoffperoxid reagiert, und durch HPLC gereinigt.

Beispiel 5

Biologische Aktivität von Verbindungen der Erfindung

Allgemeines:

[0085] Männliche Spague-Dawley-Ratten, mit einem Gewicht von 225–275 g, wurden in dieser Studie verwendet. Trägerfreies [^{125}I]/[^{123}I] Nal (0,1 N NaOH-Lösung) wurde von Nordion (Ottawa, Kanada) bzw. DuPont NEN Research Products (Boston, MA) gekauft. [^{125}I]IPT wurde gemäß früher berichteten Verfahren (Kung, M.P. et al., Synapse 20(4): 316–324 (1995)) hergestellt. Paroxetin wurde großzügigerweise von Di. C. Mathis von der University of Pittsburgh bereitgestellt. (+)McN5652 wurde freundlicherweise durch Research Biochemicals Int., durch ein Synthese-Programm, welches durch NIMH unterstützt wurde, bereitgestellt. Nisoxetine wurde in unserem Laboratorium gemäß einem früher berichteten Verfahren (Srebnik, M. et al., J. Med. Chem. 53: 2916–2920 (1998)) hergestellt. Serotonin, Methylphenidat und Racloprid wurden von Research Biochemicals Int. (Natick, MA) gekauft. Desipramin und p-Chloramphetamin (PCA) wurden von Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO) gekauft. Alle anderen verwendeten Chemikalien waren vom p.a. Reinheitsgrad.

Verfahren

In Vitro Bindung

Zelllinien

[0086] Drei Monoamin-Transporter, die jeweils in einer üblichen parentalen Zelllinie, LLC-PK (bezeichnet als LLC-DAT, LLC-NET, und LLC-SERT) exprimiert wurden, wurden freundlicherweise von Dr. G. Rudnick von der Yale University bereitgestellt. Die Zellen wurden ausplattiert und bis zur Konfluenz als eine Einzelschicht, wie beschrieben (Gu, H. et al., J. Biol. Chem. 269 (10): 7124–7130 (1994)), gezüchtet. Die Membran-Homogenisate wurden wie für die Bindungsuntersuchung mit [^{125}I]IPT hergestellt. Die Inhibition der Verbindungen auf [^{125}I]IPT, welches an LLC-DAT, LLC-NET und LLC-SERT binden, wurde in dem Untersuchungspuffer (50 mM Tris-HCl, pH 7,4, 120 mM NaCl und 0,1 % BSA), welcher 0,2–0,4 nM [^{125}I]T, wie früher beschrieben (Hou, C, et al., Society for Neuroscience Program 28th Annual Meeting, Los Angeles, CA [abstract 241.21]:112 (1998)) enthält, durchgeführt. Unter diesen Bedingungen zeigte IPT K-Werte von 1,2, 19,3 bzw. 1,2 nM für DAT, NET bzw. SERT.

Native Gewebe

[0087] Der frontale Kortex von Rattenhirn wurde zerschnitten und in 30 Puffervolumina (50 mM Tris-HCl, pH 7,4, 120 mM NaCl und 5 mM KCl enthaltend) homogenisiert. Die Homogenisate wurden bei 20.000 g für 20 Minuten zentrifugiert. Die resultierenden Pellets wurden dann resuspendiert und erneut zentrifugiert. Die endgültigen Pellets wurden in dem gleichen Puffer suspendiert und für die in vitro Bindungsuntersuchungen verwendet.

[0088] Die Bindungsuntersuchungen wurden in Glassröhrchen (12 × 75 mm) mit einem Endvolumen von 0,5 ml durchgeführt. In Sättigungsexperimenten, wurden Aliquote (100 µl entsprechen 20–30 µg Protein) der Membransuspension mit Puffer (wie oben), der 0,05–2,0 nM [^{125}I]IDAM enthält, gemischt.

[0089] Konkurrenzexperimente wurden unter Verwendung von 0,2 nM [^{125}I]IDAM und 8–10 Konzentration (10^{10} – 10^{-5} M) des konkurrierenden Arzneimittels durchgeführt. Verschiedene Inhibitoren wurden mit dem Puffer seriell verdünnt, der 0,1 % BSA enthält, um die Klebrigkeit und die Verluste aufgrund der Verdünnung zu bewältigen. Die nichtspezifische Bindung wurde mit 1 µM Paroxetin definiert. Die Inkubation wurde für 60 Minuten bei Raumtemperatur durchgeführt und dann durch Trennung der gebundenen von den freien Radioliganden durch Filtration durch einen Glasfaserfilter beendet (Schleicher & Schuell No 25, Keene, NH), welcher mit 1 % Polyethylenimin voreingeweicht wurde. Die Filter wurden dann dreimal mit 3 ml eiskaltem 20 mM Tris-Puffer gewaschen und in einem Gammazähler (Packard 5000) mit einem Wirkungsgrad von 70 % gezählt. Um die

Wirkungen von Na^+ zu untersuchen, wurden die Homogenisate in einem Natrium-freien 50 mM Tris-HCl/5 mM KCl-Puffer hergestellt. Es wurden endgültige Na^+ Konzentrationen von 0, 2, 5, 10, 20, 37,5, 75, 150, und 300 mM benutzt und die selben Untersuchungen wie oben durchgeführt. Die Proteinbestimmungen wurden mit dem Lowry-Verfahren (Lowry, O. H., et al., J. Biol. Chem. 193: 265–275 (1951)) unter Verwendung von Rinder-serumalbumin als Standard durchgeführt. Die Ergebnisse der Sättigungs- und Konkurrenzexperimente wurden der nichtlinearen Regressionsanalyse mittels EBDA (Munson, P. J. and D. Rodbard, Anal. Biochem. 107(1): 220–239 (1980)) unterzogen, durch welche die K_d , $B_{\max}$ und IC_{50} Werte erhalten wurden.

p-Chloramphetamin (PCA) Läsionsstudien

[0090] Ein Neurotoxin, p-Chloramphetamin (PCA), wurde verwendet, um die serotonergen Nervenenden von Ratten, wie früher beschrieben (Sanders-Bush, E. and V. J. Massari, Fed. Proc. 36: 2149–2153 (1977)) zu schädigen. Zehn Ratten wurden in zwei Gruppen geteilt, und ihnen wurde jeweils täglich PCA (8 mg/kg, i.p.) oder Salzlösung für 3 aufeinanderfolgende Tage injiziert. Die Tiere wurden 5 Tage nach der letzten Injektion getötet und frontal-kortikale Membran-Homogenisate wurden hergestellt. Die Differenz in den Bindungsstellen ($B_{\max}$) und Affinitäten (K_d) für [^{125}I]IDAM wurden zwischen den Kontroll- und PCA-geschädigten Ratten gemessen.

Statistik

[0091] Die Wirkungen der Arzneimittel auf die Radioaktivität in den verschiedenen Regionen des ZNS wurde unter Verwendung des Varianzanalysen-Verfahrens untersucht. Die IDAM-Bindung in Arzneimittel-behandelten Ratten wurde mit Kontrolltieren in verschiedenen Hirnregionen unter Verwendung des einseitigen t-Tests verglichen. Das Signifikanzniveau wurde als $p < 0,05$, nach der Bonferroni Korrektur für multiple Vergleiche definiert.

Bioverteilung in Ratten

[0092] Drei oder vier Ratten pro Gruppe wurden für die Bioverteilungsstudien verwendet. Während unter Ether Anästhesie wurde 0,2 ml Salzlösung, welche 10 μCi radioaktiven Tracer enthält in die Oberschenkelvene injiziert. Die Ratten wurden zu der angegebenen Zeit durch kardiale Exzision getötet, während sie unter Ether Anästhesie waren. Die Organe von Interesse wurden entfernt und abgewogen, und die Radioaktivität wurde unter Verwendung eines Packard automatischen Gammazählers (Modell 5000) gezählt. Die prozentuelle Dosis pro Organ wurde durch Vergleich der Gewebezählungen zu Zählungen von 1 % der ursprünglichen Dosis (100mal verdünnte Aliquote des injizierten Materials), welche zu der gleichen Zeit gemessen wurde, berechnet.

[0093] Regionale Hirnverteilung in Ratten wurde nach einer i.v. Injektion des radioaktiven Tracers gemessen. Die Proben von unterschiedlichen Hirnregionen (Cortex (CX), Striatum (ST), Hippocampus (HP), Zerebellum (CB) und Hypothalamus (HY)) wurden zerschnitten, abgewogen und gezählt. Die prozentuelle Dosis/g jeder Probe wurde durch Vergleich der Probenzählungen mit den Zählungen der oben beschriebenen, verdünnten ursprünglichen Dosis berechnet. Das Verhältnis der spezifischen Bindung (SB) in jeder Region wurde durch Dividieren der Differenz von jeder Region vom Zerebellum (prozentuelle Dosis/g) durch die des Zerebellums [Region-CB/CB] erhalten. Die keine Serotonin-Transporter enthaltende Zerebellum-Region wurde als eine Hintergrundregion verwendet.

[0094] In vivo kompetitive Bindung der verschiedenen Aufnahme von [^{125}I]IDAM wurde durch Vorbehandeln der Tiere jeweils mit Paroxetin, (+)McN5652, Desipramin, Nisoxetin, Methylphenidat, Racloprid und IDAM (2 mg/kg, jeweils, i.v. 5 Minuten vor der Injektion von [^{125}I]IDAM) untersucht. Die Experimente wurden unter Verwendung von Gruppen von 3–4 Tieren pro Studie durchgeführt. Ähnliche regionale Hirnverteilungen wurden 60 Minuten nach der [^{125}I]IDAM Injektion, wie oben beschrieben, bestimmt. Die Reduktion der regionalen spezifischen Bindung in den Arzneimittel-vorbehandelten Ratten wurde mit den Kontrolltieren, welche mit Salzlösung vorbehandelt wurden, verglichen. Metaboliten-Analyse von Hirngeweben sechzig Minuten nach einer i.v. Injektion von 200–300 μCi von [^{125}I]IDAM in zwei männliche Ratten wurden die Bereiche, die den Hypothalamus-Regionen entsprechen, zerschnitten. Die Gewebe wurden dann in 1,5 ml 50mM Tris-Puffer (pH 7,4) homogenisiert und die Homogenisate wurden mit Ethylacetat (3 $\times$ 1,5 ml) in der Gegenwart von nicht-radioaktivem IDAM (100 μg) extrahiert. Die extrahierten Ethylacetat-Schichten wurden beinahe bis zur Trockenheit evaporiert und die Reinheit von [^{125}I]IDAM in den kondensierten Extrakten wurde durch HPLC (PRP-1 Säule, Lösungsmittel: $\text{CH}_3\text{CN}/\text{DMGA}$:90/10; Flussrate: 1 ml/min) analysiert. Kontrollproben wurden durchgeführt, indem 5–10 μCi von [^{125}I]IDAM Hypothalamus-Gewebe hinzugefügt wurde, gefolgt von denselben Prozeduren, wie

für die Versuchsproben verwendet wurden, um die Extraktionswirksamkeit zu bestimmen.

Ex vivo Autoradiographie von [125 I]IDAM in Rattenhirnen

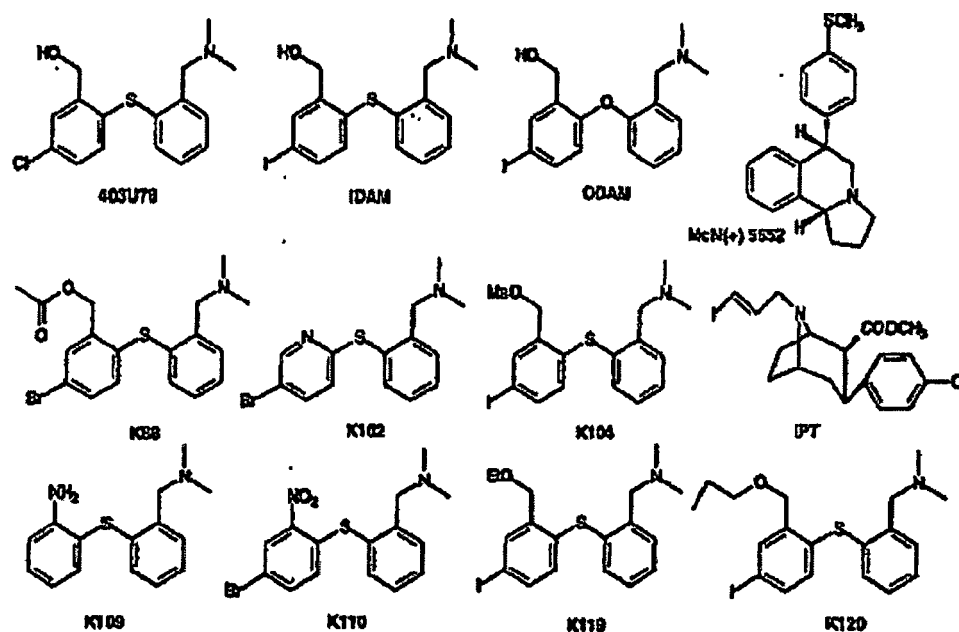
[0095] Ratten unter Ether-Anästhesie wurde intravenös 0,4 ml einer 500 μ Ci [125 I]IDAM enthaltenden Salzlösung injiziert. 60 Minuten nach der i.v. Injektion, wurden die Tiere durch kardiale Exzision, während unter Ether-Anästhesie, getötet. Die Hirne wurden schnell entfernt, in einem Einbettungsmedium (Tissue Tek, Miles Laboratory, Elkhart, IN) platziert und mit Trockeneispulver gefroren. Nach dem Erreichen eines Gleichgewichtes bei -20°C , wurden aufeinanderfolgende 20 μm koronale Sektionen auf einem Kryo-stat Mikrotom (Hacker Instruments, Fairfield, NJ) geschnitten, durch Auftauen auf einen mikroskopischen Objektträger fixiert, und bei Raumtemperatur luftgetrocknet. Die Objektträger, die die Hirnsektion aufweisen, wurden zusammen mit 20 μm dicken ^{125}I Standards (Amersham Corp., Arlington, Ill) einem DuPont Röntgenfilm für 72 Stunden in 9 Autoradiographiekassetten ausgesetzt. Die Mikroskala-Standards wurden mit Gewebepüree-Standards für die Wertumwandlung in nCi/mg Protein kalibriert. Der ausgesetzte Film wurde durch einen Kodak automatischen Filmbearbeiter entwickelt. Die optischen Dichten wurden mit einem von NIH entwickelten Bildanalysensystem (Image 1.61) bestimmt. Die Blockierungsstudien wurden durch Vorbehandeln der Ratten mit Paroxetin oder Nisoxetin (2 mg/kg, i.v. 5 Minuten vor der Tracer-Injektion) durchgeführt. Die Hirnsektionen der vorbehandelten Ratten wurden durch dasselbe Verfahren, wie oben für die normalen unbehandelten Ratten beschrieben ist, verarbeitet.

Ergebnisse

Selektivität für Monoamin-Transporter (DAT, SERT und NET)

[0096] Die Bindungsselektivität für drei Monoamin-Transporter von IDAM, ODAM, anderen Verbindungen der Erfindung und früher beschriebenen Verbindungen wurden verglichen. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 1A und 1B, unten berichtet. Diese Transporter, die jeweils in einer gebräuchlichen parentalen Zelllinie, LLC-PK₁, exprimiert wurden, wurden für die Evaluierung verwendet.

Tabelle 1A

Inhibierungskonstanten (K_i) der Verbindungen der Erfindung

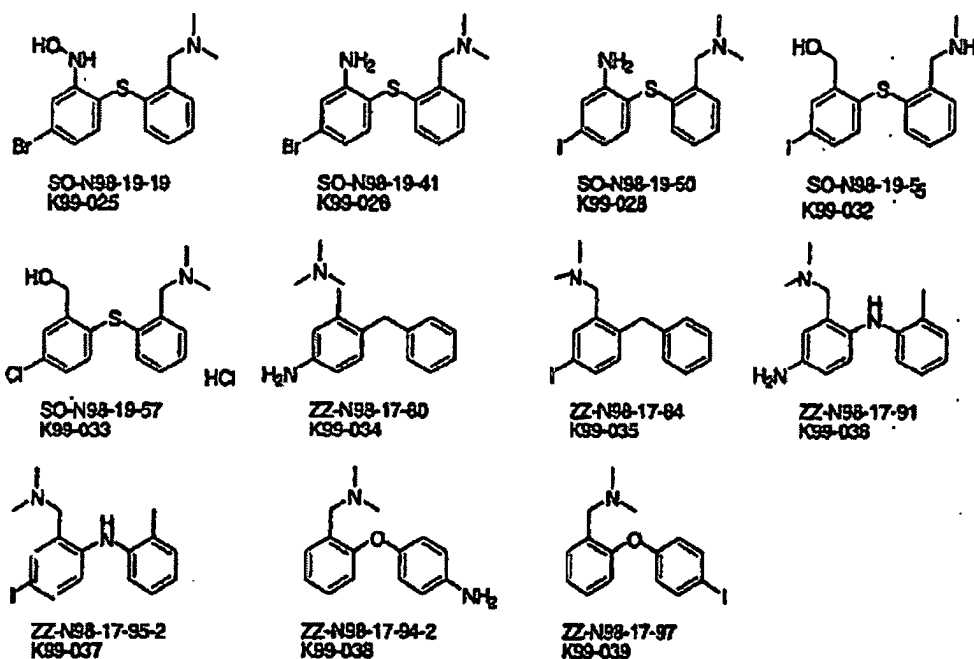
	DAT	NET	SERT
403U76	>1000nM*	55±10 nM*	2.1±0.4 nM*
IPT	1.2±0.1 nM	19.3±6.3 nM	1.2±0.1nM
R(+)-McN5652	112±23 nM	11.3±3.3 nM	<0.01 nM
IDAM	> 10µM	234±26 nM	0.097±0.013 nM
ODAM (K99006)	3.9±0.7 Mm	20.0±1.9 µM	0.12±0.02 nM
K68	20.45 ±1.55 nM	419.5±62.5 nM	2.42±0.06 nM
K102	—	—	>1 µM
K104	11.0±0.2µM	155.2±18.7 nM	0.02±0.00 nM
K109	1.7±0.6 µM	46.2±0.7 µM	0.038±0.010nM
K110	14.7±2.2 µM	6.3±0.7 µM	1.9 nM (n=1)
K119	11.1±1.1 µM	201±23 µM	0.234±0.115 nM
K120	9.3±0.2 µM	382±46 nM	0.33±0.06 nM

Verbindungen 403U76, IDAM, ODAM, R(+)-McN5652, K68, K102, K104, IPT, K110, K119 und K120 sind nicht als Ausführungsformen der Erfindung dargestellt, sondern nur als Beispiele, die für das Verständnis der Erfindung nützlich sind.

Tabelle 1B

Inhibierungskonstanten (K_i) der Verbindungen der Erfindung

Selektivität von IDAM-Derivaten für Monoamin-Transporter: DAT, NET und SERT, die in LLC-PK1 Zellen exprimiert werden



	DAT	NET	SERT
K99025		165 ± 9 nM	~ .075 nM
K99026		214 ± 68 nM	~ .022 nM
K99028		699 ± 80 nM	~ .013 nM
K99032			<0.01 nM
K99033			<0.01 nM
K99034			35.0 ± 2.5 nM
K99035			2.8 ± .1 nM
K99036			139 ± 15 nM
K99037			27.3 ± 6.9 nM
K99038			—
K99039			<0.01 nM

Verbindungen K99025, K99032, K99033, K 99034, K99035, K99036, K99037, K99038 und K99039 sind nicht als Ausführungsformen der Erfindung dargestellt, sondern nur als Beispiele, die für das Verständnis der Erfindung nützlich sind.

[0097] Die in vitro Bindungsuntersuchungen wurden mit Puffer (50 mM Tris-HCl, pH 7,4, 120 mM NaCl, 1 % BSA) und [125 I]IDAM als der Ligand durchgeführt. Membranzubereitungen der spezifischen Transporter: Dopamin-Transporter (DAT), Norepinephrin-Transporter (NET) bzw. Serotonin-Transporter (SERT), in LLC-PK₁-Zellen exprimiert, wurden verwendet.

[0098] *Werte wurden als IC₅₀ für Inhibierung auf die Substrataufnahme ausgedrückt, welche von Ferris, R.M. et al. „Pharmacological properties of 403U76, a new chemical class of 5-hydroxytryptamine- and nonadrenaline-reuptake inhibitor.“ J. Pharm. Pharmacol. 47: 775–781 (1995) entnommen wurden.

[0099] In einer Kompetitionsbindungsuntersuchung unter Verwendung von [125 I]IPT als der Radioligand für alle drei Monoamin-Transporter (Kung, M. P. et al., Synapse 20(4): 316–324 (1995); Hou, C, et al., Society for Neuroscience Program 28th Annual Meeting, Los Angeles, CA [abstract 241.21]:112 (1998)), IDAM, sowie bromierte Derivate, zeigten eine hohe Affinität (K_i -Werte kleiner als 0,1 nM) für SERT. Hohe K_i -Werte (> 10 μ M) deuten auf ein Fehlen der Bindung dieser Verbindungen an DAT hin. Die Substitution von Br mit I scheint die

Bindungsaffinität zu NET ($K_i = 35,4$ nM für das bromierte Derivate und 234 nM für IDAM) zu reduzieren. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass IDAM dem früher berichteten chlorierten Derivat (403U76) überlegen ist (Ferris, R.M. et al., J. Pharm. Pharmacol. 47: 775–781 (1995)) (Die in Tabelle 1 gezeigte Selektivität, wurde als die Inhibierung auf die Substrataufnahme) ausgedrückt. (+)McN5652, der selektive PET Tracer für SERT, wurde unter ähnlichen Untersuchungsbedingungen evaluiert. Eine selektive Bindung wurde für diese Verbindungen mit K_i -Werten von $< 0,01$, 11,3 bzw. 112 nM für SERT, NET, bzw. DAT beobachtet. Im Vergleich zu (+)McN5652, zeigte IDAM ein vergleichbares und sogar besseres Selektivitätsprofil (weniger markante NET Bindung) für SERT.

In Vitro [125 I]IDAM Bindungsstudien

[0100] Ähnlich zu anderen SERT Liganden, benötigte die [125 I]IDAM Bindung an Ratten frontal-kortikale Membran-Homogenisate die Gegenwart von Natrium-Ionen (Na^+). Es gab einen schnellen Anstieg der spezifischen Bindung mit einer erhöhten Natriumkonzentration bis zu 100 mM, über dieser Konzentration gab es einen graduellen Anstieg (etwa 10%) bis zu einer Konzentration von 200 mM. Deshalb wurden für die nachfolgenden Untersuchungen unter Verwendung eines 50 mM Tris-HCl Puffers, welcher 5 mM KCl und 120 mM NaCl enthält, durchgeführt.

[0101] Die spezifische Bindung von [125 I]IDAM an SERT wurde mittels Ratten frontal-kortikalen Membran-Homogenisaten untersucht. Die nicht-spezifische Bindung wurde mittels 1 μM Paroxetin definiert. Unter diesen Bedingungen war die spezifische Bindung gesättigt und von hoher Affinität. Scatchard-Transformation der Bindungsdaten ergab eine lineare graphische Darstellung, die auf eine einseitige Bindung hinweist (Fig. 1). Die Mittelwerte von 3 Experimenten ergaben einen K_d -Wert von $0,25 \pm 0,05$ nM und einen B_{max} Wert von 272 ± 30 fmol/mg Protein. Die Anzahl der Bindungsstellen, die mit [125 I]IDAM erhalten wurde, ist mit den Werten, die für andere, ähnliche SERT Liganden berichtet wurden, vergleichbar (Kung, M.P. et al., Life Sci. 51: 95–106 (1992); Mathis, C. A., et al., Eur. J. Pharmacol. 210(1): 103–104 (1992)).

[0102] Die systematische Behandlung von Ratten mit p-Chloramphetamin (PCA) ist bekannt, dass sie die endogenen Serotonin-Konzentrationen um 90 % reduziert und eine gleichzeitige Reduktion von Serotonin-Neuronen im Hirn verursacht (Kohler, C. et al., Ann. NY Acad. Sci. 305: 645–663 (1978)). Die frontale Cortexgewebe-Zubereitung von Ratten, die mit PCA behandelt wurde, wurde für Bindungsstudien von [125 I]IDAM-Bindung verwendet. Läsionen von serotonergen Neuronen wurden durch systemische Injektion von PCA induziert, die eine profunde Wirkung auf die Bindung zu den kortikalen Membran-Homogenisaten erzeugten, die von den geschädigten Tieren hergestellt wurden (Fig. 1). Wie erwartet gab es eine dramatische Reduktion der spezifischen Bindung: der beobachtete B_{max} verringerte sich von 272 ± 30 fmol/mg Protein auf 20 ± 7 fmol/mg Protein, mit keiner signifikanten Änderung der Bindungsaffinität (K_d).

In Vitro Kompetitionsstudien

[0103] Eine Vielzahl von Arzneimitteln wurden in Kompetitionsbindungsuntersuchungen mit [125 I]IDAM verwendet, um die pharmakologischen Profile von [125 I]IDAM in Ratten frontal-kortikalen Homogenisaten zu charakterisieren. Paroxetin und (+)McN5652, zwei bekannte SERT-Liganden, konkurrieren effektiv mit [125 I]IDAM-Bindung, wobei sie einen K_i -Wert von weniger als 0,1 nM zeigen (Fig. 2). Das nicht-radioaktive IDAM zeigte ebenfalls eine hohe Wirksamkeit in der Inhibierung mit einem niedrigeren K_i -Wert ($K_i = 0,08$ nM). Arzneimittel, wie Nisoxetin und Desipramin, bekannte selektive MET Inhibitoren, zeigten eine mäßige Affinität, um für die [125 I]IDAM Bindung ($K_i = 20,2$ bzw. 54,9 nM für Nisoxetin bzw. Desipramin) zu konkurrieren. Wohingegen, der endogene Neurotransmitter 5-HT einen K_i -Wert von 437 nM ergab. Racloprid (ein selektiver Dopamin D2/D3 Ligand) und Methylphenidat (ein selektiver DAT Ligand) waren in der Inhibierung der [125 I]IDAM-Bindung ($K_i = 669$ bzw. > 1000 nM) viel weniger aktiv.

In Vivo [125 I]IDAM Bindung

[0104] Die Bioverteilung von [125 I]IDAM in verschiedenen Organen und Hirnregionen nach der i.v. Injektion ist in Tabelle 2, unten, gezeigt. Die anfängliche Hirnaufnahme 2 Minuten nach der Injektion war hoch (2,44 % Dosis), was auf einen effektiven Durchgang des Tracers durch die intakte Blut-Hirn-Barriere hinweist. Die optimale Lipophilizität dieses Liganden wurde durch seinen Verteilungskoeffizienten ($PC = 473$) zwischen n-Octanol und Phosphatpuffer, pH 7,4 reflektiert. Die gesamte Radioaktivität von den Hauptorganen, die 2 Minuten nach der Injektion gemessen wurde, war relativ gering (weniger als 60 % der gesamten injizierten Dosis). Die schnelle Klärung (clearance) von [125 I]IDAM von den Raten deutet darauf hin, dass die Verbindung schnell metabolisiert und in den Urin ausgeschieden werden kann. Zu späteren Zeitpunkten wurde die Radioaktivität vom Hirn mit

0,50 bzw. 0,17% Dosis bei 60 bzw. 120 Minuten ausgewaschen. Der größte Teil der Radioaktivität war 4 Stunden nach der Injektion vom Hirn ausgewaschen.

[0105] Die Radioaktivitätsniveaus in allen Hirnregionen waren nach 2 Minuten am höchsten und sanken dann über die 4-stündige Periode. Die Auswaschrates war in CB, in welchem keine SERT Bindungsstellen lokalisiert wurden, im Vergleich zu anderen Hirnregionen (d.h. ST, HP, CX und HY, in welchen verschiedenen Niveaus an SERT konzentriert sind) höher. 30 Minuten nach der Injektion, zeigten Regionen, die serotonerge Innervationen enthalten, d. h. ST, HP, CX und HY, eine höhere Konzentration an Radioaktivität als CB. Das Verhältnis der spezifischen Aufnahme in die Hypothalamus Region ([HY-CB/CB]) erhöhte sich fortlaufend für 2 Stunden nach der Injektion (Tabelle 2). Die regionalen Aktivitäten erschienen jedoch zwischen 60 Minuten und 120 Minuten nach der Injektion schnell abzufallen. Basierend auf dieser Beobachtung wurden die Arzneimittel-Expositions-Experimente 60 Minuten nach der i.v. Injektion durchgeführt.

[0106] Um die Stabilität von [125 I]IDAM in Rattenhirnen nach einer i.v. Injektion zu untersuchen, wurde die mit der Hypothalamus-Region assoziierte Radioaktivität 60 Minuten nach der Injektion untersucht. Es wurde gefunden, dass nur unmetabolisiertes [125 I]IDAM (> 95 %) wiedergewonnen wurde. Keine signifikant-nachweisbaren Metaboliten im Hirn bekräftigten die positiven Charakteristika der Tracer.

Tabelle 2
Bioverteilung der Radioaktivität in Ratten nach einer i.v. Verabreichung von [125 I] IDAM.
(Durchschnitt $\pm$ Standardabweichung von drei Ratten in jedem Punkt)

Organ	% Dosis/Organ (Organ)							
	2 min	30 min	60 min	120 min	240 min			
Blut	7.019 ±0.41	7.63 ±1.03	6.380 ±0.729	4.160 ±0.150	2.246 ±0.303			
Herz	1.303 ±0.10	0.27 ±0.02	0.187 ±0.008	0.114 ±0.023	0.048 ±0.004			
Muskel	19.06 ±8.51	16.27 ±0.82	6.775 ±0.145	4.714 ±0.977	2.818 ±0.208			
Lunge	10.42 ±1.36	1.78 ±0.08	0.931 ±0.086	0.422 ±0.055	0.220 ±0.018			
Niere	6.54 ±0.26	3.48 ±0.643	1.993 ±0.351	0.832 ±0.071	0.488 ±0.065			
Milz	0.31 ±0.08	0.279 ±0.026	0.167 ±0.027	0.066 ±0.008	0.024 ±0.004			
Leber	6.46 ±1.18	4.709 ±0.347	4.120 ±0.766	2.722 ±0.308	1.469 ±0.189			
Haut	3.27 ±0.48	6.121 ±0.536	7.538 ±0.127	6.716 ±1.304	3.851 ±0.073			
Hirn	2.44 ±0.34	1.174 ±0.062	0.503 ±0.027	0.168 ±0.029	0.033 ±0.002			
Region	% Dosis/g (Region)							
	2 min	30 min	60 min	SB*	120 min	SB*	240 min	SB*
CEREBELLUM	1.377 ±0.479	0.416 ±0.045	0.153 ±0.019	--	0.053 ±0.005	--	0.012 ±0.000	--
STRIATUM	1.377 ±0.344	0.875 ±0.086	0.257 ±0.042	1.104	0.105 ±0.052	0.967	0.018 ±0.002	0.508
HIPPOCAMPUS	1.485 ±0.263	0.832 ±0.048	0.355 ±0.016	1.002	0.134 ±0.011	1.524	0.020 ±0.003	0.705
CORTEX	2.353 ±0.444	0.820 ±0.108	0.310 ±0.060	0.972	0.89 ±0.018	0.674	0.017 ±0.003	0.475
HYPOTHALAMUS	1.782 ±0.412	0.918 ±0.113	0.422 ±0.066	1.208	0.142 ±0.027	1.679	0.022 ±0.011	0.865

* SB: Spezifische Bindung = (Region-CB)/CB

Pharmakologische Spezifität der in vivo [125 I] IDAM Bindung

[0107] Die Wirkungen der Vorbehandlung von Ratten mit verschiedenen Verbindungen auf die regionale Hirn-

verteilung von [125 I]IDAM wurde untersucht, um die in vivo pharmakologische Spezifität zu beurteilen. Die spezifische Bindung von [125 I]IDAM in allen Hirnregionen, außer HP, war durch die Vorbehandlung mit Paroxetin, (+)McN5652 und IDAM dramatisch reduziert ($p < 0,05$). Diese Ergebnisse deuten auf eine wirksame in vivo Kompetitionsbindung dieser Verbindung mit [125 I]IDAM für SERT hin. Die Größenordnung der Blockierung in verschiedenen Regionen war: HY > CX > ST > HP (Fig. 3). Es gab ein hohes Niveau an nicht-spezifischer Bindung in der HP-Region, die nicht durch spezifische SERT Liganden blockiert werden konnte. Verbindungen wie Methylphenidat (selektiv für DAT) und Racloprid (selektiv für Dopamin D2/D3 Rezeptoren) zeigten keine Wirkung auf die spezifische Aufnahme. Nisoxetin und Desipramin, zwei selektive Liganden für NET, zeigten keine signifikante Inhibierung der [125 I]IDAM-Bindung zu der Hirnregion, was auf eine fehlende Bindung zu diesen Tracern zu NET Stellen hinweist. Die hoch-selektive an vivo Bindung von SERT, die mit [125 I]IDAM beobachtet wurde, ist eine äußerst wünschenswerte Eigenschaft für ein potientes SERT Bildgebungsmittel.

Ex vivo Autoradiographie

[0108] 60 Minuten nach der Injektion von [125 I]IDAM zeigten Autoradiogramme von Rattenhirnsektionen eine intensive Markierung in mehreren Regionen (Paxiolog, G. and C. Watson „The Rat Brain In Stereotaxic Coordinates,“ New York Academic Press, (1986)), d.h. olfaktorisches Tuberkulum, laterale Septalkerne, hypothalamische und thalamische Kerne, Globus pallidus, Zentralgrau, Colliculus Superior, Substantia nigra, Nucleus interpeduncularis, dorsale und median Raphe und Locus, Coeruleus (Fig. 4), Bereiche die bekannt sind, dass sie eine hohe Dichte an SERT Stellen besitzen (Cortes, R. et al, Neuroscience, 27: 473–496 (1988)). Eine niedere aber nachweisbare Markierung wurde im Cortex frontalis, Caudate/Putamen, ventrales Pallidum, und Hippocampus gefunden, Bereiche, die eine signifikant niedere Menge an SERT Stellen enthalten. Die mit [125 I]IDAM beobachtete regionale Verteilung stimmt mit jener für andere SERT Liganden berichteten überein (Bieganski, A., et al., Brain Res. 619, 236–246 (1993); Kovachich, G. B. et al., Brain Res. 454: 78–88 (1988); De Souza, E. B. and B. L. Kuyatt, Synapse 1: 488–496 (1987)), was darauf hindeutet, dass die in vivo nicht-spezifische Bindung von [125 I]IDAM nicht signifikant ist. In mit einer hohen Dosis an Paroxetin (2 mg/kg, i.v.), einem selektiven SERT Ligand, vorbehandelten Ratten waren die Autoradiogramme im Vergleich zu übereinstimmenden Sektionen von Kontrollratten signifikant reduziert. Der Prozentsatz der spezifischen Bindung variierte von mehr als 95 % im Nucleus interpeduncularis, medianen Raphe und dorsomedialen Hypothalamus zu weniger als 30 % in hippocampalen Regionen und mehreren kortikalen Regionen. Eine in HP beobachtete nicht-spezifische Bindung (nicht durch Paroxetin blockierbar) (von mehr als 70 %), die durch ex vivo Autoradiogramm beobachtet wurde, korreliert gut mit den Ergebnissen, die unter Verwendung der zerschnittenen Hirnregionen erhalten wurden, (Fig. 3). Die Autoradiogramme von Hirnsektionen von Nisoxetin-vorbehandelten Ratten deuten darauf hin, dass es keinen statistisch signifikanten Unterschied für die Markierung von [125 I]IDAM zwischen Kontroll- und Nisoxetin-vorbehandelten Ratten gibt. Die Ergebnisse bestätigen weiters die selektive Bindung von [125 I]IDAM zu SERT Stellen ohne gleichzeitige Markierung für NET Stellen.

Beispiel 5

Biologische Aktivität von ODAM (Phenoxetin)

[0109] Eine anfängliche Bioverteilungsstudie in Ratten (i.v. Injektion), wie in Beispiel 4 durchgeführt, zeigte eine schnelle Hirnaufnahme und Auswaschung (2,03, 1,49, 0,79, 0,27 bzw. 0,07 % Dosis/Organ bei 2, 30, 60, 120 bzw. 240 Minuten). Noch wichtiger ist, dass die Hypothalamus-Region, in welcher die Serotonin Neuronen lokalisiert sind, eine hohe spezifische Aufnahme zeigte (Tabelle 3). Hypothalamus/Zerebellum-Verhältnisse dieser zwei Regionen, die auf dem Prozentsatz Dosis pro Gramm (% Dosis/g) basieren, zeigten Werte von 1,22, 1,86, 1,86, 1,63 bzw. 1,34 bei 2, 30, 60, 120 bzw. 240 Minuten nach der i.v. Injektion. Die regionale Hirnlokalisierung ist jedoch nicht so eindeutig als jene von IDAM.

Tabelle 3

Bioverteilung in Ratten nach einer i.v. Injektion von [125 I]ODAM(%Dosis/Organ, Durchschnitt von 3 Ratten $\pm$ Standardabweichung)

Organ	2 Minuten	30 Minuten	60 Minuten	120 Minuten	240 Minuten
Blut	3,009 $\pm$ 0,212	3,517 $\pm$ 0,504	3,296 $\pm$ 0,373	1,868 $\pm$ 0,186	0,976 $\pm$ 0,073
Hirn	2,033 $\pm$ 0,087	1,489 $\pm$ 0,146	0,785 $\pm$ 0,231	0,267 $\pm$ 0,066	0,065 $\pm$ 0,017
Schild-drüse	0,080 $\pm$ 0,019	0,039 $\pm$ 0,006	0,028 $\pm$ 0,005	0,034 $\pm$ 0,006	0,041 $\pm$ 0,038

Regionale Hirnverteilung (Verhältnis/CB)

Region	2 Minuten	30 Minuten	60 Minuten	120 Minuten	240 Minuten
Zerebellum	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Striatum	0,906	1,590	1,605	1,617	1,539
Hippocampus	0,983	1,563	1,791	1,846	1,648
Cortex	1,436	1,771	1,690	1,672	1,322
Hypothalamus	1,221	1,860	1,858	1,630	1,343

PC: 305, 1-Octanol/0,1 M KH₂PO₄ Puffer, pH 7,4

[0110] Anfängliche Bindungsstudien unter Verwendung von frontalen Cortex Membran-Homogenisaten vom Rattenhirn (siehe Beispiel 4) und [125 I]IDAM als Ligand zeigte, dass das ODAM eine sehr gute Bindungsaffinität für SERT ($K_i = 2,88 \pm 0,88$ nM) zeigte.

[0111] Unter Verwendung der Membranzubereitungen, die spezifische Monoamin-Transporter: DAT, NET bzw. SERT, die in LLC-PKT-Zellen₁ exprimiert wurden, enthalten, wurde die Inhibierungskonstante von IDAM und ODAM bestimmt und sind in Tabelle 4 aufgelistet. Es erscheint, dass IDAM wirksamer und selektiver zu SERT ist. Die in vivo Bioverteilungsdaten in Ratten und die SPECT Bildgebungsstudie deuten darauf hin, dass ODAM eine höher Hirnaufnahme und eine langsamere Klärung von den Zielbereichen zeigte.

[0112] Tabelle 4 ist ein Vergleich der Inhibierungskonstanten (K_i) von IDAM und ODAM unter Verwendung der in vitro Bindungsuntersuchung und Membranzubereitungen, die spezifische Monoamin-Transporter: DAT, NET bzw. SERT, die in LLC-PKT-Zellen₁ exprimiert wurden, enthalten.

Tabelle 4

Vergleich der Inhibierungskonstanten (K_i) von IDAM und ODAM

	DAT	NET	SERT
IDAM	> 10 μ M	234 $\pm$ 26 nM	0,097 $\pm$ 0,013 nM
ODAM	3,9 $\pm$ 0,7 μ M	20,0 $\pm$ 1,9 nM	0,12 $\pm$ 0,02 nM

SPECT Bildgebung in Pavianen

[0113] Der Erwerb von SPECT Bildern wurde durch eine Dreikopf-Gamma-Kamera, die mit Ultrahochauflösungs-Fan-Beam-Kollimatoren (Picker Prism 3000) ausgestattet ist, erreicht. Die Akquisitionsparameter wiesen einen Rotationsradius von 14 cm, ein 15 % Energiefenster, welches auf 159 KeV zentriert ist, 120 Projektionswinkel über 360 Grad, und eine 128×128 Matrix mit einer Pixelweite von 2, 11 mm in der Projektionsdomäne auf. Die Datenaufnahme begann unmittelbar nach der i.v. Injektion von 555 MBq (15 mCi) von [^{123}I]IDAM. Achtundvierzig 5 Minuten Scans wurden über eine Gesamtzeit von 240 Minuten durchgeführt.

[0114] Die Projektionsbilder wurden durch gefilterte Rückprojektion rekonstruiert. Dann wurde ein 3D, Tiefpass Butterworthfilter eingesetzt. Chang's Verfahren 1. Ordnung wurde für eine einheitliche Abschwächungskorrektur verwendet. Die summierten Daten zwischen 60–120 Minuten nach der Injektion von [^{123}I]IDAM wurden verwendet, um die transversalen, koronalen und sagittalen Ansichten der SPECT Bilder des Paviankopfes bereitzustellen.

[0115] Die SPECT Bildgebungsstudie von [^{123}I]IDAM im Hirn eines Pavians mittels SPECT, 60–120 Minuten nach der Injektion, zeigte einen exzellenten Kontrast in dem Mittelhirnbereich (Raphekerne, Substantia nigra, Hypothalamus), wo eine hohe Dichte an SERT konzentriert ist ([Fig. 5](#)). Die Co-Erfassung mit MRI wurde für die Identifikation der anatomischen Struktur verwendet und resultierte in der erwarteten Lokalisierung dieses Tracers. Die mit [^{123}I]IDAM beobachteten Bilder zeigten eine sehr gute Korrelation mit den Bildern, die mit dem PET Bildgebungsmittel [^{11}C](+)McN5652 erhalten wurden.

[0116] Die SPECT Bilder der [^{123}I]ODAM Bindung an Serotonin Transporter in ein Paviankopf und die Zeit-Aktivitäts-Kurven wurden in einer ähnlichen Weise erhalten ([Fig. 8A](#)). Die SPECT Bilder, die ungefähr 90–120 min nach der Injektion auf der Ebene des Mittelhirns erhalten wurden, waren sehr ähnlich zu jenen die mit [^{123}I]IDAM erhalten wurden.

[0117] Die Zeit-Aktivitätskurven für das Mittelhirn und Zerebellum für sowohl [^{123}I]IDAM und [^{123}I]ODAM (beide in dem selben Pavian) wurden verglichen ([Fig. 8B](#)). Die Zählungen sind für die injizierte Dosis korrigiert worden, so dass sie die ungefähre Menge der relativen Hirnaufnahme zwischen den zwei Tracern darstellen sollte. [^{123}I]ODAM scheint eine höhere Hirnaufnahme zu haben, und eine langsamere Kinetik als [^{123}I]IDAM, was möglicherweise den langsameren Metabolismus widerspiegelt, der für den neueren Tracer erwartet wird. Verglichen mit [^{123}I]IDAM ist die gesamte integrierte Hirnaufnahme (Fläche unter der Zeit-Aktivitätskurven, extrapoliert zu $t = \infty$) 46 % höher im Zerebellum und 58 % höher in dem Mittelhirn für [^{123}I]ODAM. Die Kinetik für die Aufnahme und Retention von ODOM im Hirn zeigt unterschiedliche Raten im Vergleich zu jenen von [^{123}I]IDAM.

[0118] [Fig. 8A](#) zeigt ein summiertes transversales Bild an dem Punkt des Pseudogleichgewichts (ungefähr 90–120 Minuten nach der Injektion) ungefähr auf dem Niveau des Mittelhirns.

[0119] [Fig. 8B](#) zeigt die Zeit-Aktivitäts-Kurven für das Mittelhirn und Zerebellum für sowohl [^{123}I]IDAM und [^{123}I]ODAM (beide in dem selben Pavian).

Diskussion der in vitro und in vivo Ergebnisse

[0120] Eine neuartige radioiodierte Verbindung, [^{125}I]IDAM, zum Abbilden von SERT im Hirn wurde erfolgreich evaluiert. Anfängliche Studien der Bindungsselektivität von IDAM für drei Monoamin-Transporter (SERT, DAT, und NET) wurde in LLC-PK1-Zellen (die jeweils einen der drei Monoamin-Transporter exprimieren) durchgeführt (Gu, H. et al. J. Biol. Chem. 269(10): 7124–7130 (1994)). IDAM zeigte eine exzellente Bindung an SERT Stellen ($K_i = 0,097$ nM) und zeigte eine bessere Selektivität für SERT (mehr als 1000fach), als im Vergleich zu den entsprechenden chlorierten und bromierten Derivaten (Tabelle 1). Die niedere Affinität von IDAM für NET ($K_i = 234$ nM) macht es äußerst wünschenswert als ein selektives SPECT Bildgebungsmittel für SERT. Die von IDAM demonstrierte Selektivität für SERT ist ähnlich oder sogar besser als die von (+)McN5652. Die einzigartige Charakteristik plus eine optimale Lipophilizität, die von diesem Tracer gezeigt wird (Verteilungskoeffizient = 473; 1-Octanol/pH 7 Puffer), machen diesen Tracer einen geeigneten Kandidaten für einen SERT Tracer für die SPECT Bildgebung.

[0121] Die Bindungsaffinität von diesem Ligand wurde in einem nativen Gewebekomogenisat-System gemessen, indem Ratten frontal-kortikale Membrane verwendet wurden, zu welchen eine hohen Bindungsaffini-

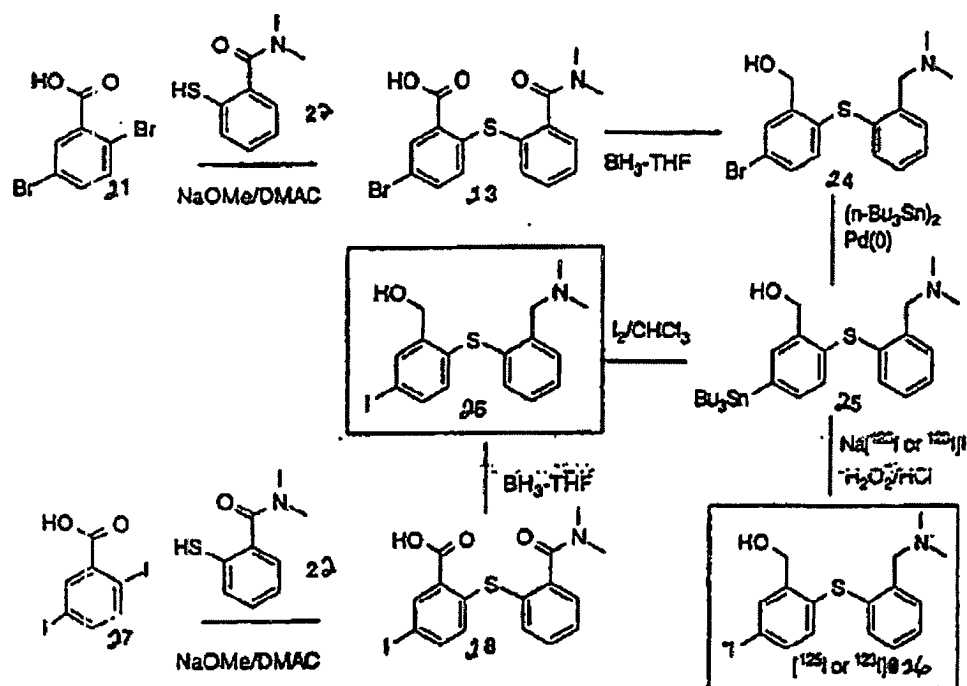
tät von [125 I]IDAM ($K_d = 0,2$ nM) beobachtet wurde. Zusätzliche zeigte [125 I]IDAM eine niedere nicht-spezifische Bindung ($< 5\%$ bei K_d -Wert) im Vergleich zu einem anderen radioiodierten Ligand, 4-I-Tomoxetin, ($>25\%$ bei Wert; $K_d = 0,04$ nM) (Kung, M. P. et al., Life Sci. 51: 95–106 (1992)). Mehrere konkrete Hinweise deuten darauf hin, dass die spezifische [125 I]IDAM Bindung an Ratten kortikale Membranen in der Tat mit SERT in Zusammenhang steht. Erstens war die [125 I]IDAM Bindung zu Ratten kortikalen Membranen wirksam und vollständig durch bekannte SERT Liganden, wie Paroxetin und (+)McN5652 mit K_i -Werten im unteren nanomolekularen Bereich, inhibiert. Arzneimittel die die anderen zwei Monoamin Transporter markieren, wie Nisoxetin oder Desipramin (NET selektiv) und Methylphenidat (DAT selektiv) waren viel weniger wirksam beim Inhibieren der [125 I]IDAM Bindung an die kortikale Membranzubereitung (Fig. 2). Zweites führte die Zerstörung von serotonergen Neuronen durch PCA zu einem 90% Verlust der [125 I]IDAM Bindung zu Ratten kortikalen Membranen (Fig. 1), was zeigt, dass der Ligand spezifisch an die serotonergen Neuronen gebunden ist, auf welchen die SERT Bindungsstellen lokalisiert sind.

[0122] In den in vivo Bioverteilungsstudien, wurde eine hohe Radioaktivität-Akkumulation im Rattenhirn nach einer i.v. Verabreichung von [125 I]IDAM beobachtet (2,44 % der injizierten Dosis 2 Minuten nach der Injektion), was auf seine exzellente Fähigkeit die Blut-Hirn-Barriere zu durchdringen, hindeutet. Der Grund dafür ist wahrscheinlich die von diesem Tracer gezeigte optimale Lipophilizität (Verteilungskoeffizient = 473). Eine signifikante Menge des injizierten [125 I]IDAM kann zu den Zielstellen im Hirn geliefert werden, was die erste Anforderung als ein geeignetes Bildgebungsmittel erfüllt. 60 Minuten nach der Injektion von [125 I]IDAM korreliert die regionale Verteilung der Radioaktivität im Hirn gut mit der serotonergen Innervation überall im Rattenhirn. Da die Zerebellum-Region nur eine minimale Serotonin-Innervation erhält (Hrdina, P.D. et al., J. Pharmacol. Exp. Ther. 252(1): 410–418 (1990)), reflektiert die mit dem Zerebellum assoziierte niedere Radioaktivität die niedere nicht-spezifische in vivo Bindung von [125 I]IDAM. Die Werte der spezifischen regionalen Bindung (SB), die als Verhältnisse [(Region-CB)/CB] ausgedrückt sind, waren exzellent (siehe Tabelle 2). Diese Verhältnisse, die mit [125 I]IDAM in der Hypothalamus Region erhalten wurden, scheinen geringfügig kleiner zu sein, als jene die für [11 C](+)McN5652 (3,6 bei 90 Minuten) oder [123 I]5-I-6-NO₂-Quipazin (4,0 bei 2 bis 6 Stunden) berichtet wurden (Biegón, A. et al., Brain Res. 619: 236–246 (1993)). Der Grund für das niedere Verhältnis (1,75 bei 60 min) könnte in Einschränkungen in der Präzision beim Zuschneiden von kleinen und einzelnen Bereichen im Rattenhirn, die angereicherte SERT enthalten, liegen. Die Verhältnisse, die von unterschiedlichen Laboratorien berichtet wurden, sind stark vom Bediener abhängig. Es ist trotzdem demonstriert worden, dass die spezifische Lokalisierung von [125 I]IDAM in Hirnregionen mit der serotonergen terminalen Verteilung gut korreliert. Die Natur der spezifischen regionalen Bindung von [125 I]IDAM, hauptsächlich in der Hypothalamus Region, wurde weiters durch Kompetitionsstudien validiert. Geradezu alle der selektive Bindungen (SB), wie durch das (HY-CB)/CB Verhältnis angedeutet ist, werden durch eine Vorbehandlung mit spezifischen SERT Liganden, d.h. Paroxetin oder (+)McN5652, (Fig. 3) blockiert, was darauf hinweist, dass [125 I]IDAM mit diesen Blockern um die selben SERT Stellen konkurriert. Wie erwartet hatte die Vorbehandlung mit Mitteln, die keine SERT Affinität zeigen, keine Auswirkung auf die regionale Verteilung von [125 I]IDAM im Rattenhirn. Die in vivo pharmakologische Spezifität von [125 I]IDAM für SERT im Rattenhirn ist in der vorliegenden Studie gut dargestellt.

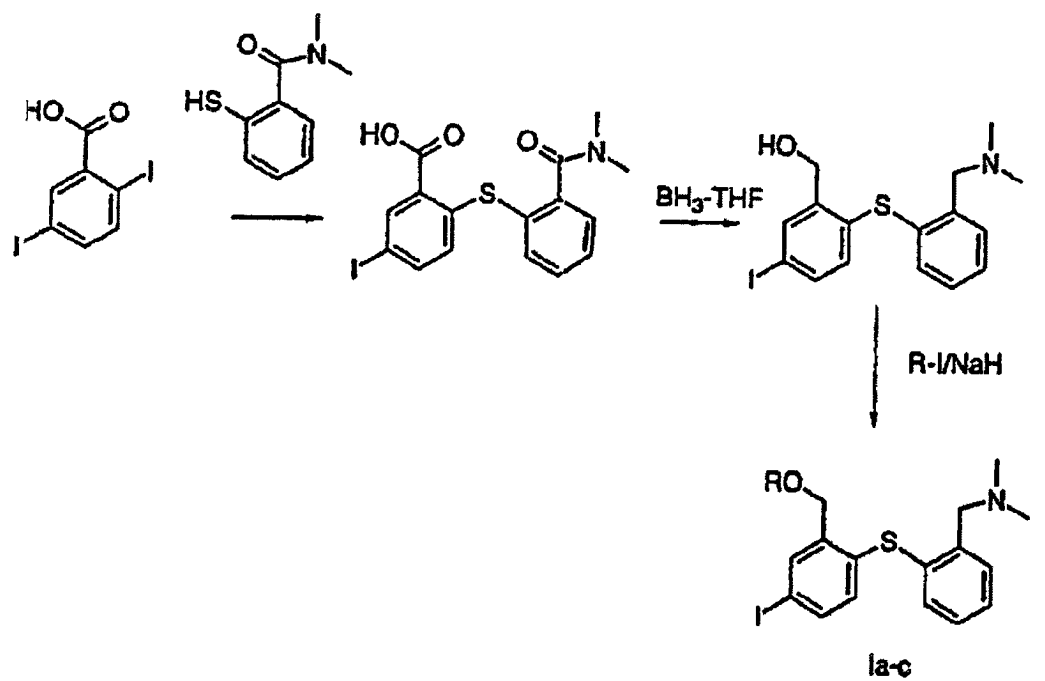
[0123] Es wurde gefunden, dass die Kinetik der in vivo [125 I]IDAM Bindung zu SERT Stellen im Rattenhirn relativ schnell ist, wobei sie sich dem optimalen Verhältnis (Ziel vs. Nicht-Ziel) in nur 30 Min. nach der Injektion annähert. Eine schnelle Klärung von den Hirnregionen wurde mit einer Halbwertszeit von weniger als 60 Minuten beobachtet. In der vorliegenden Studie mit Ratten wurde ein mässiges Peakverhältnis [SB = 1,75 von (HY-CB)/CB] beobachtet. Trotz des schnellen peripheralen Metabolismus, der Klärung und des mässigen Ziel vs. Nicht-Ziel Verhältnis, die mit [125 I]IDAM in Ratten beobachtet wurden, resultierten die vorläufigen Bildgebungsstudien mit [123 I]IDAM/SPECT in Pavianen in einem exzellenten Kontrast und reflektierten die bekannten Verteilungsmuster von SERT im Hirn von Pavianen deutlich (Fig. 5).

[0124] Schließlich ist radioiodiertes IDAM ein selektiver in vivo und in vitro Ligand für SERT. Dieser neuartige Tracer, der eine hohe Affinität, exzellente Selektivität und ein gutes Hirn-Eindringvermögen demonstrierte, weist ausgezeichnete Charakteristika für die SPECT Bildgebung von SERT im Hirn auf.

Schema 1

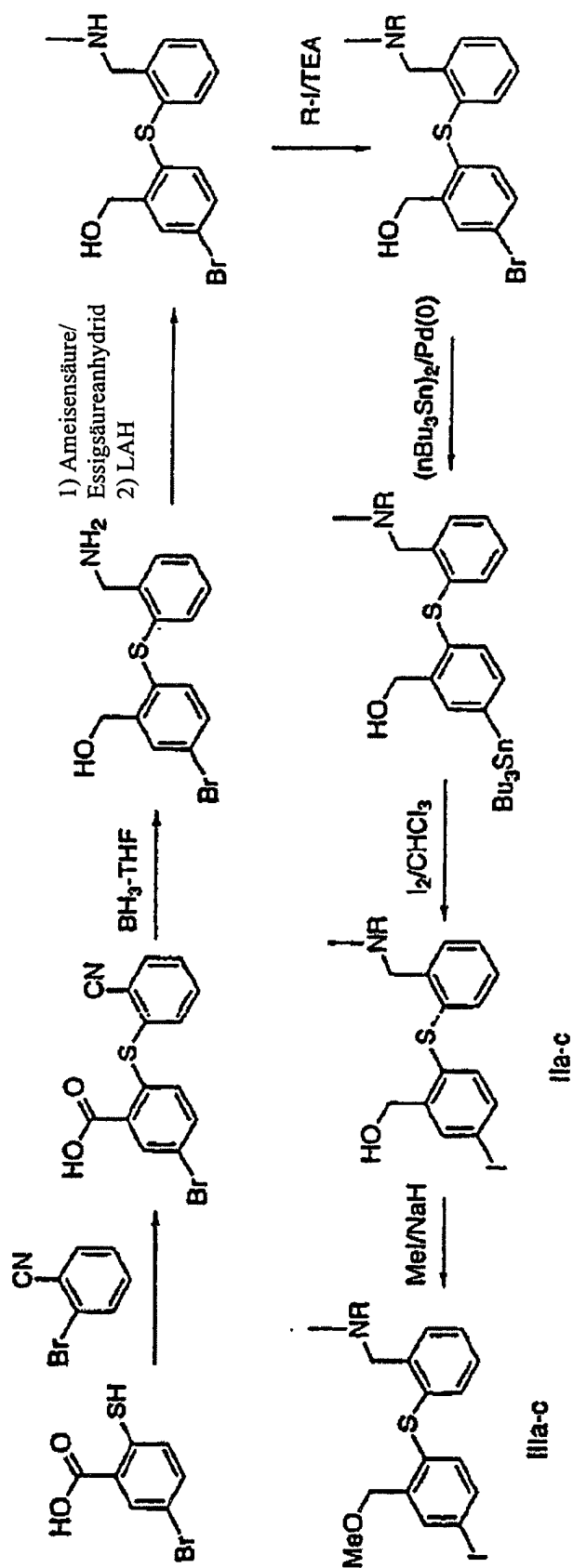


Schema 2



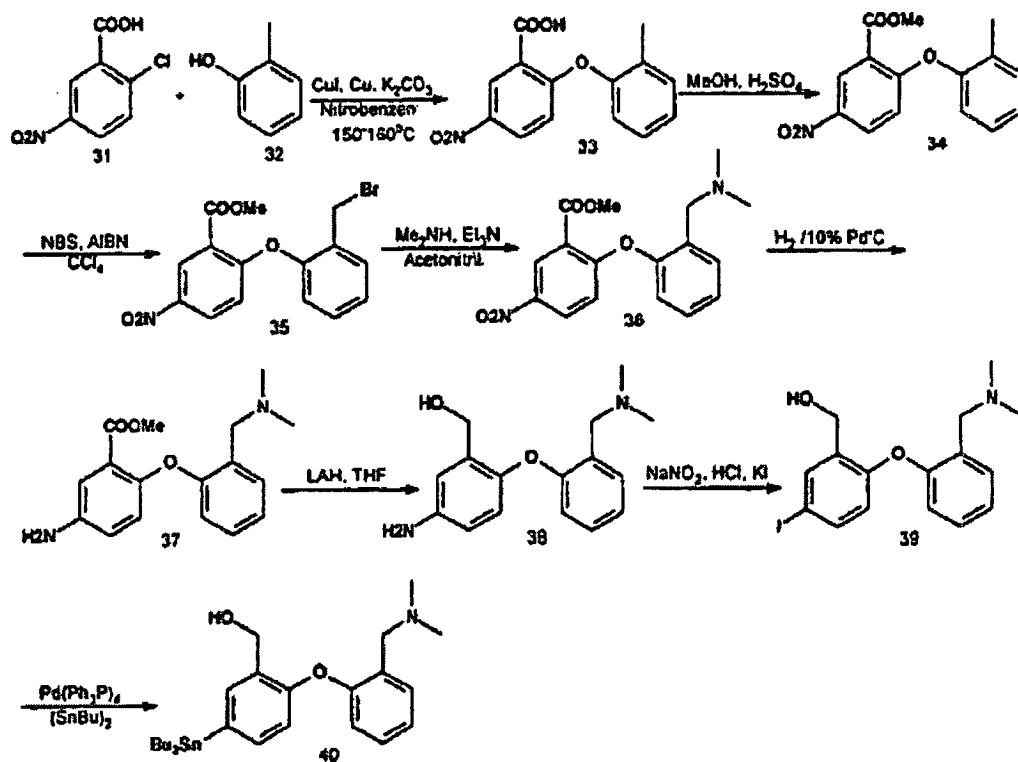
R: a: CH_3 , b: C_2H_5 , c: C_3H_7

Schema 3

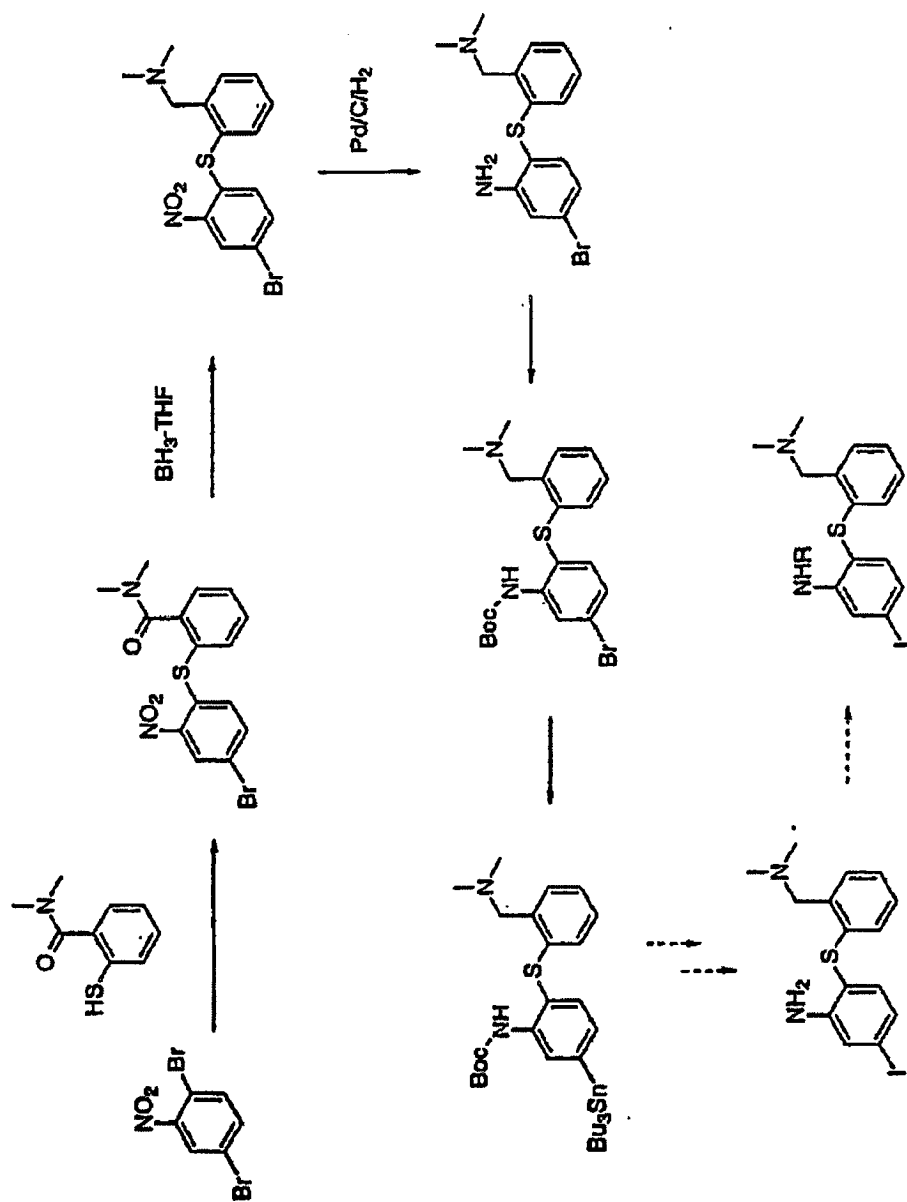


R: a: CH_3 , b: C_2H_5 , c: C_3H_7

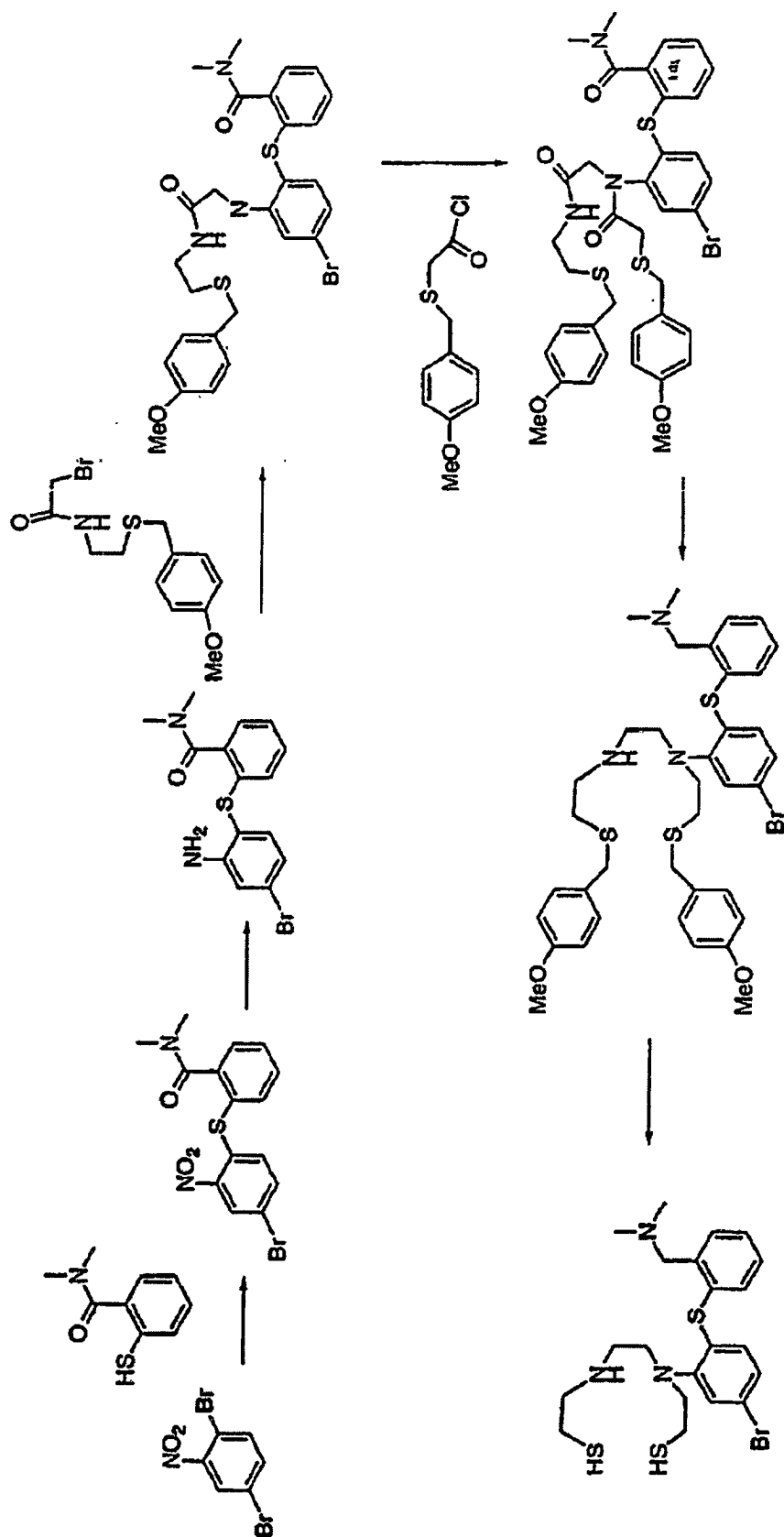
Schema 4



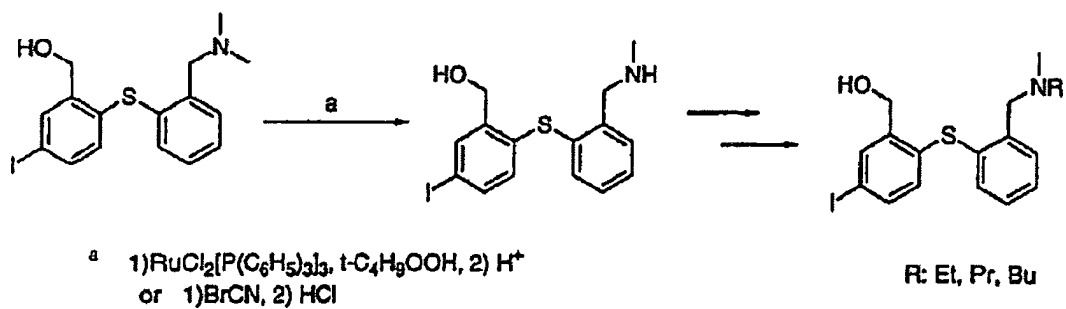
Schema 6



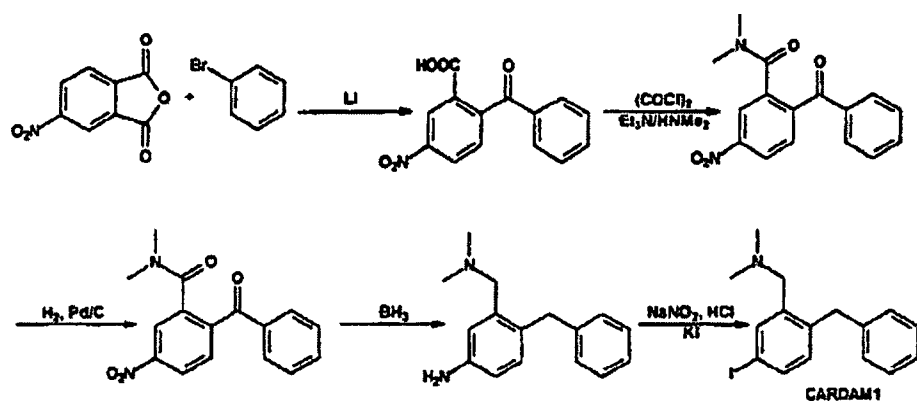
Schema 7



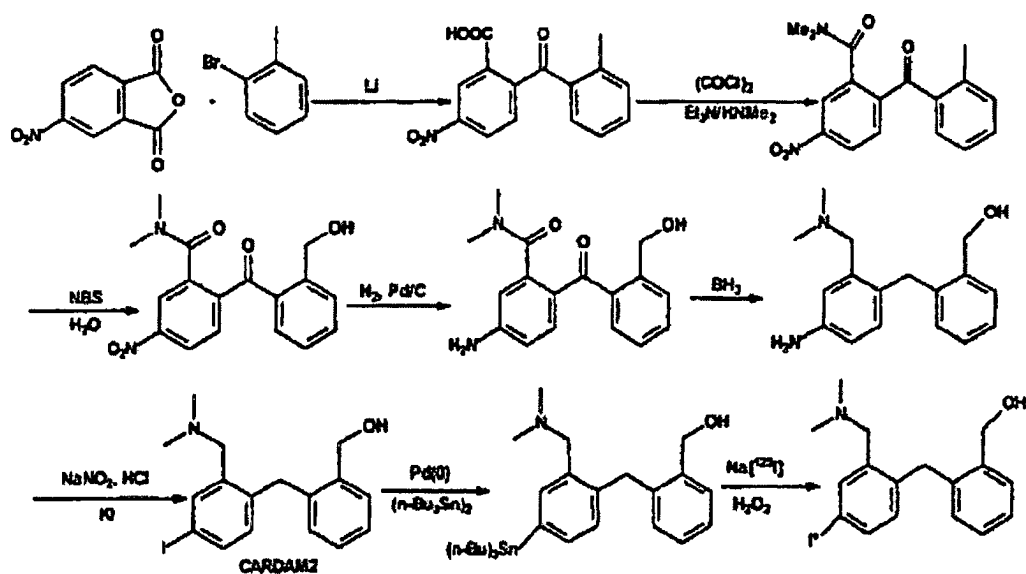
Schema 8



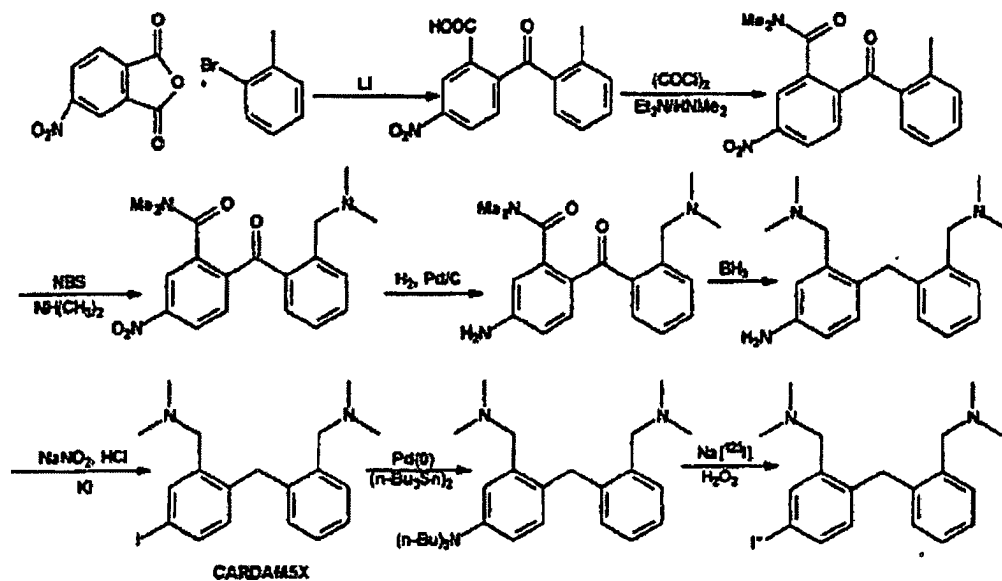
Schema 9



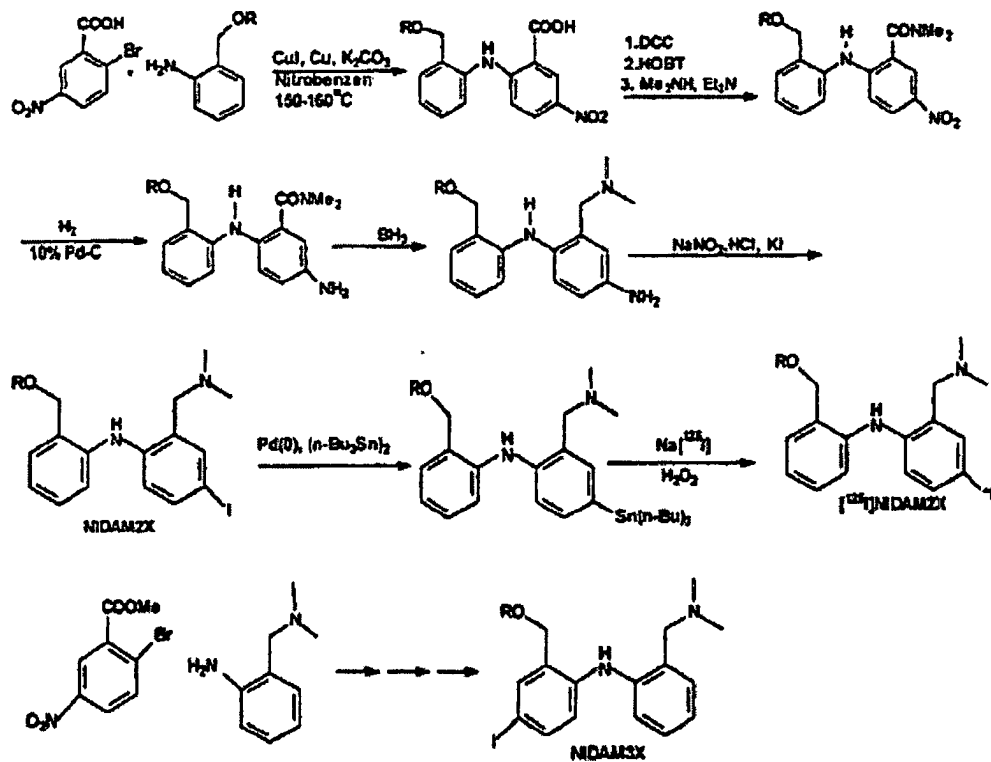
Schema 10



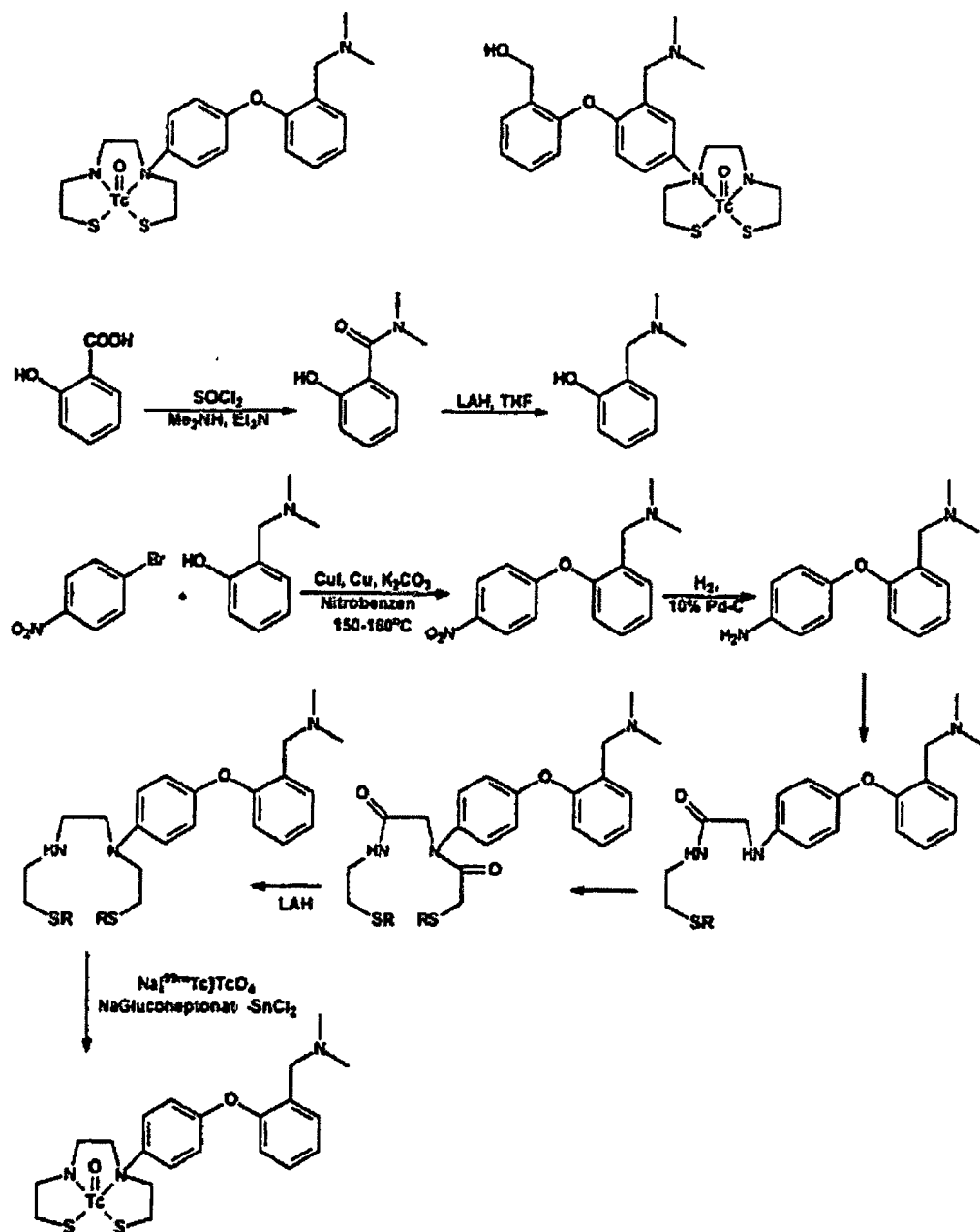
Schema 11



Schema 12

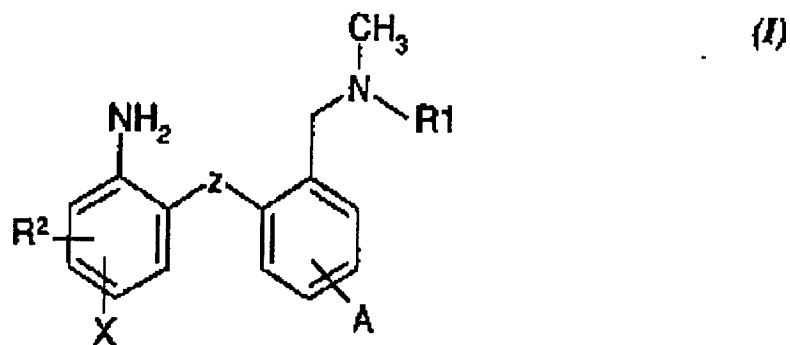


Schema 13



Patentansprüche

1. Verbindung nach Formel I:



oder ein pharmazeutisch akzeptables Salz derselben, wobei
 X Wasserstoff, Cl , Br , I , NO_2 , NR^3R^4 oder $-\text{L}-\text{Ch}$ ist;
 Z S , O , NR^6 , CR^7R^8 , $\text{C}(\text{O})$ oder $-\text{C}(\text{=CR}^7\text{R}^8)-$ ist;

A Wasserstoff, Cl, I, Br oder -L-Ch ist;

R¹ Wasserstoff, C₁-C₅-Alkyl, C₃-C₈-Cycloalkyl, C₁₋₅-Alkylcarbonyl, (C₃-C₈-Cycloalkyl)carbonyl, Phenyl, Benzyl, Naphthyl, Naphthylmethyl oder -L-Ch ist;

R² Wasserstoff oder Methyl ist;

R³ und R⁴ unabhängig voneinander Wasserstoff, Hydroxy, C₁-C₅-Alkyl, C₃-C₈-Cycloalkyl, C₁₋₅-Alkylcarbonyl, (C₃-C₈-Cycloalkyl)carbonyl, Phenyl, Benzyl, Naphthyl, Naphthylmethyl oder -L-Ch sind;

R⁶ Wasserstoff, C₁-C₅-Alkyl, C₃-C₈-Cycloalkyl, C₁₋₅-Alkylcarbonyl, (C₃-C₈-Cycloalkyl)carbonyl, Phenyl, Benzyl, Naphthyl, Naphthylmethyl oder -L-Ch ist;

R⁷ und R⁸ unabhängig voneinander Wasserstoff, C₁-C₅-Alkyl oder Chlor sind;

L eine kovalente Bindung oder Verbindungsgruppe ist, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus -(CH₂)_n und -(CH₂)_n-C(O)-, wo n 1–5 ist, und

Ch ein vierzähliger Ligand ist, der mit einem Metall Chelate bilden kann;

unter dem Vorbehalt, dass eins und auch nur eins von A, X, R¹, R³, R⁴ oder R⁶ -L-Ch ist; oder unter dem Vorbehalt, dass eins von X oder A oder beide Br oder I sind.

2. Verbindung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass

X Br oder I ist;

Z S, O, NR⁶, CR⁷R⁸, C(O) oder -C(=CR⁷R⁸) ist;

A Wasserstoff ist;

R¹ Wasserstoff, C₁-C₅-Alkyl, C₃-C₈-Cycloalkyl, C₁₋₅-Alkylcarbonyl, (C₃-C₈-Cycloalkyl)carbonyl, Phenyl, Benzyl, Naphthyl oder Naphthylmethyl ist;

R² Wasserstoff oder Methyl ist;

R⁶ Wasserstoff, C₁-C₅-Alkyl, C₃-C₈-Cycloalkyl, C₁₋₅-Alkylcarbonyl, (C₃-C₈-Cycloalkyl)carbonyl, Phenyl, Benzyl, Naphthyl oder Naphthylmethyl ist; und

R⁷ und R⁸ unabhängig voneinander Wasserstoff, C₁-C₅-Alkyl oder Chlor sind.

3. Verbindung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass

X Wasserstoff, Cl, Br, I, NO₂ oder NR³R⁴ ist;

Z S, O, NR⁶, CR⁷R⁸, C(O) oder -C(=CR⁷R⁸) ist;

A Br oder I ist;

R¹ Wasserstoff, C₁-C₅-Alkyl, C₃-C₈-Cycloalkyl, C₁₋₅-Alkylcarbonyl, (C₃-C₈-Cycloalkyl)carbonyl, Phenyl, Benzyl, Naphthyl oder Naphthylmethyl ist;

R² Wasserstoff oder Methyl ist;

R³ und R⁴ unabhängig voneinander Wasserstoff, Hydroxy, C₁-C₅-Alkyl, C₃-C₈-Cycloalkyl, C₁₋₅-Alkylcarbonyl, (C₃-C₈-Cycloalkyl)carbonyl, Phenyl, Benzyl, Naphthyl oder Naphthylmethyl sind;

R⁶ Wasserstoff, C₁-C₅-Alkyl, C₃-C₈-Cycloalkyl, C₁₋₅-Alkylcarbonyl, (C₃-C₈-Cycloalkyl)carbonyl, Phenyl, Benzyl, Naphthyl oder Naphthylmethyl ist; und

R⁷ und R⁸ unabhängig voneinander Wasserstoff, C₁-C₅-Alkyl oder Chlor sind.

4. Verbindung nach Anspruch 2, bei welcher X ein radioaktives Isotop ist, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus ¹²³I, ¹³¹I, ¹²⁵I, ⁷⁷Br und ⁷⁶Br.

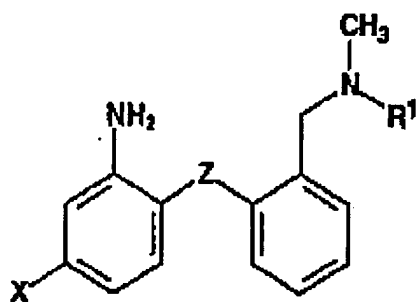
5. Verbindung nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass X ¹²³I ist.

6. Verbindung nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass A ein radioaktives Isotop ist, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus ¹²³I, ¹³¹I, ¹²⁵I, ⁷⁷Br und ⁷⁶Br.

7. Verbindung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass X ¹²³I ist.

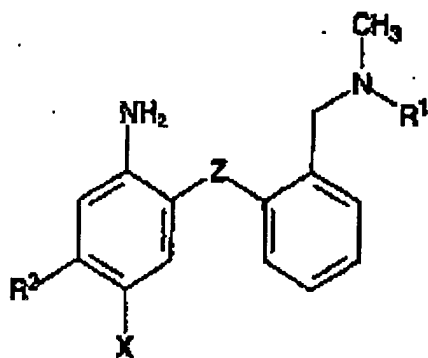
8. Verbindung nach Anspruch 1, das die allgemeine Formel besitzt:

(VIII)



oder

(IX)



oder ein pharmazeutisch akzeptables Salz derselben, wobei X, Z und R¹ und R² wie in Anspruch 1 definiert sind.

9. Verbindung nach Anspruch 8, bei welcher

X I oder Br ist;

Z S, O, N(CH₃), C(O), C(=CH₂) oder CH₂, insbesondere S ist, und

R¹ Methyl ist.

10. Verbindung nach Anspruch 9, bei welcher X ¹²³I, ¹³¹I, ¹²⁵I, ⁷⁷Br oder ⁷⁶Br ist.

11. Verbindung nach Anspruch 8, bei welcher

X Wasserstoff, I oder Br ist;

Z S ist, und

R¹ Wasserstoff oder Methyl ist.

12. Verbindung nach Anspruch 8, bei welcher X ¹²³I, ¹³¹I, ¹²⁵I, ⁷⁷Br oder ⁷⁶Br ist.

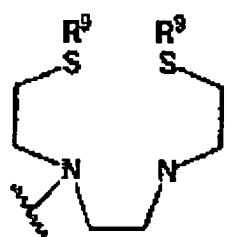
13. Verbindung nach Anspruch 8, die die Formel VIII besitzt, wobei

X ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus ¹²³I, ¹³¹I und ¹²⁵I;

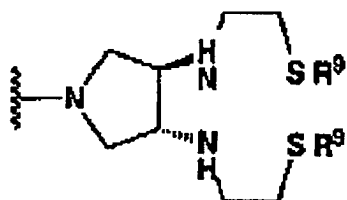
Z -S- ist; und

R¹ Methyl ist.

14. Verbindung nach Anspruch 1, bei welcher Ch ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus:

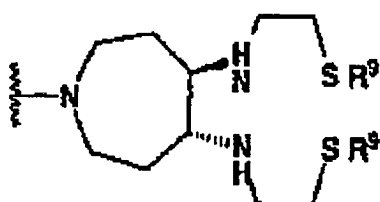


(II)



(III)

und

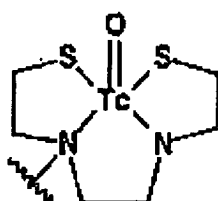


(IV).

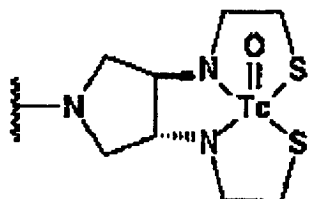
wobei R^9 Wasserstoff oder eine Sulfhydryl-Schutzgruppe ist.

15. Verbindung nach Anspruch 14, bei welcher R^9 Wasserstoff, Methoxymethyl, Methoxyethoxymethyl, p-Methoxybenzyl oder Benzyl ist.

16. Technetiumchelate einer Verbindung nach Anspruch 1, wobei Ch ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus

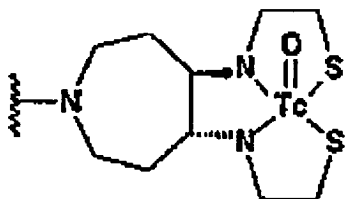


(V)



(VI)

und



(VII).

17. Radiopharmazeutischer Komplex, der eine Verbindung nach Anspruch 14 und radioaktives Metall aufweist, das ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Technetium-99m, Rhenium-186 und Rhenium-188 und daran koordinativ gebunden ist.

18. Szintigraphieverfahren, welches aufweist:

- i) Verabreichung einer wirksamen Menge einer radiopharmazeutischen Zusammensetzung an ein Säugetier, wobei die Zusammensetzung eine radiopharmazeutische Verbindung nach Anspruch 4 und ein(en) pharmazeutisch akzeptablen/es Träger oder Verdünnungsmittel aufweist, und
- ii) Szintigraphische Bilderzeugung von dem Säugetier nachdem der Zusammensetzung ausreichend Zeit gegeben wurde, um sich im Gewebe des Säugetiers zu lokalisieren.

19. Szintigraphieverfahren, welches aufweist:

- i) Verabreichung einer wirksamen Menge einer radiopharmazeutischen Zusammensetzung an ein Säugetier, wobei die Zusammensetzung eine radiopharmazeutische Verbindung nach Anspruch 6 und ein(en) pharmazeutisch akzeptablen/es Träger oder Verdünnungsmittel aufweist, und
- ii) Szintigraphische Bilderzeugung von dem Säugetier nachdem der Zusammensetzung ausreichend Zeit gegeben wurde, um sich im Gewebe des Säugetiers zu lokalisieren.

20. Szintigraphieverfahren, welches aufweist:

- i) Verabreichung einer wirksamen Menge einer radiopharmazeutischen Zusammensetzung an ein Säugetier, wobei die Zusammensetzung eine Technetium-Verbindung nach Anspruch 16 und ein(en) pharmazeutisch akzeptablen/es Träger oder Verdünnungsmittel aufweist, und
- ii) Szintigraphische Bilderzeugung von dem Säugetier nachdem der Zusammensetzung ausreichend Zeit gegeben wurde, um sich im Gewebe des Säugetiers zu lokalisieren.

21. Szintigraphieverfahren, welches aufweist:

- i) Verabreichung einer wirksamen Menge einer radiopharmazeutischen Zusammensetzung an ein Säugetier, wobei die Zusammensetzung eine radiopharmazeutische Verbindung nach Anspruch 13 und ein(en) pharmazeutisch akzeptablen/es Träger oder Verdünnungsmittel aufweist, und
- ii) Szintigraphische Bilderzeugung von dem Säugetier nachdem der Zusammensetzung ausreichend Zeit gegeben wurde, um sich im Gewebe des Säugetiers zu lokalisieren.

Es folgen 7 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

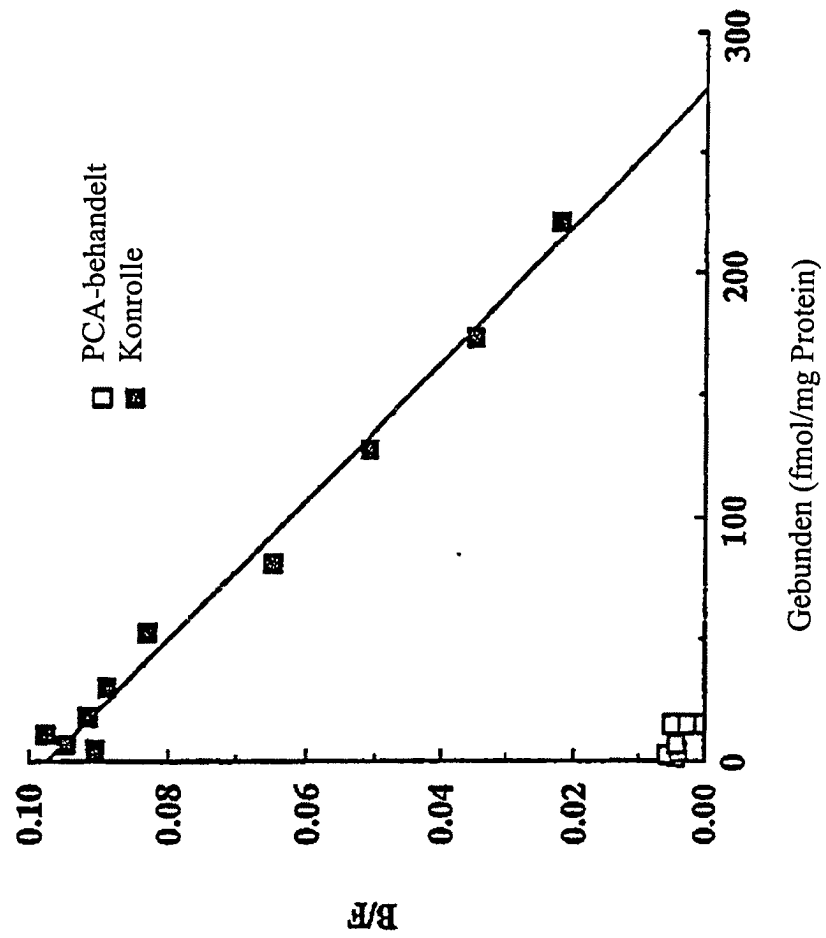


Fig. 1

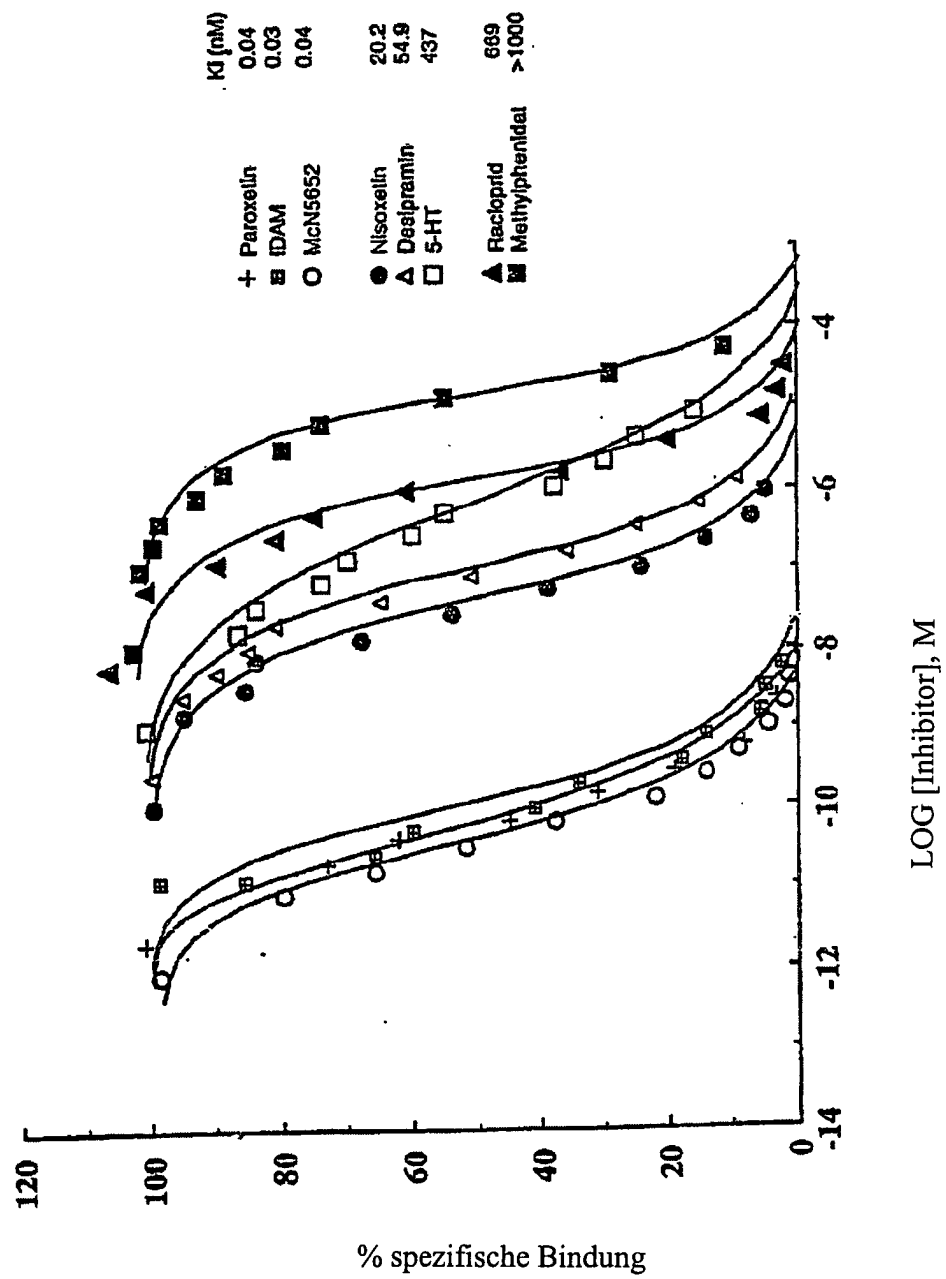


Fig. 2

Fig. 3

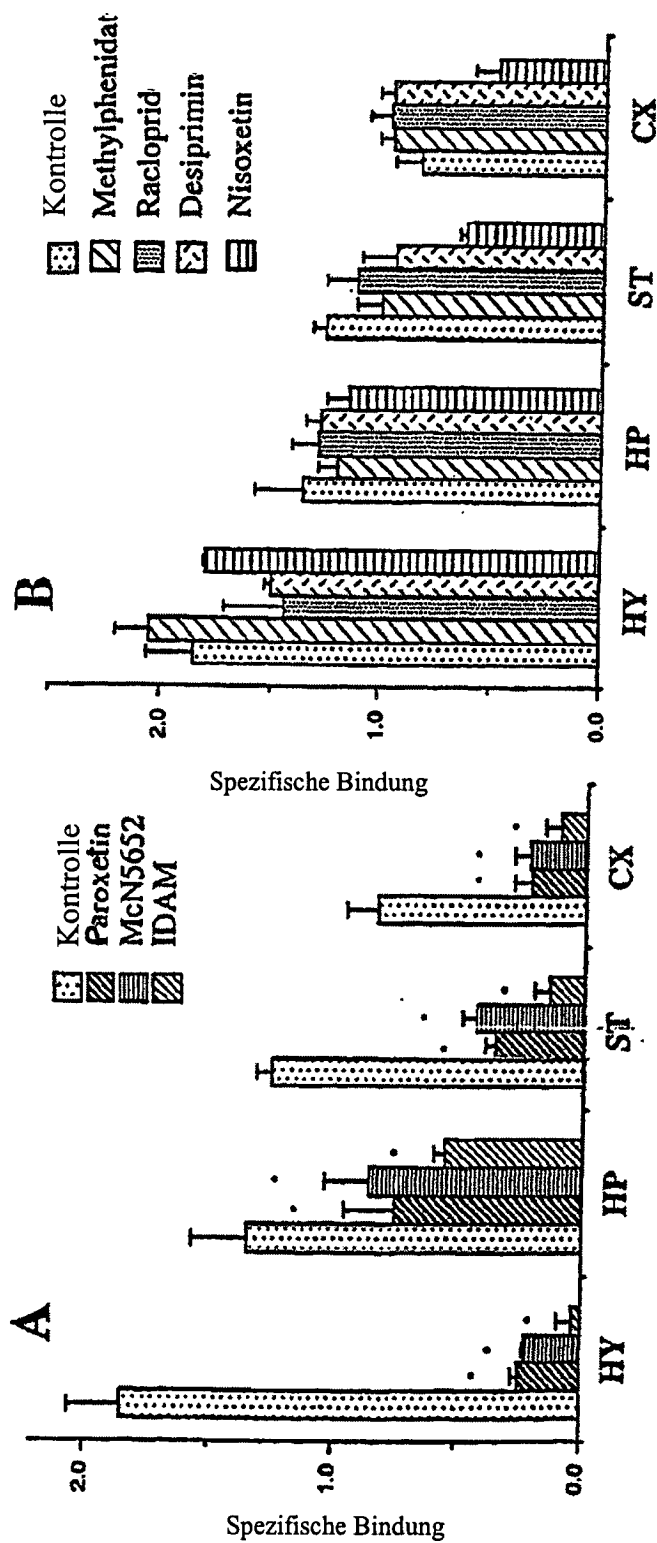


Fig. 4

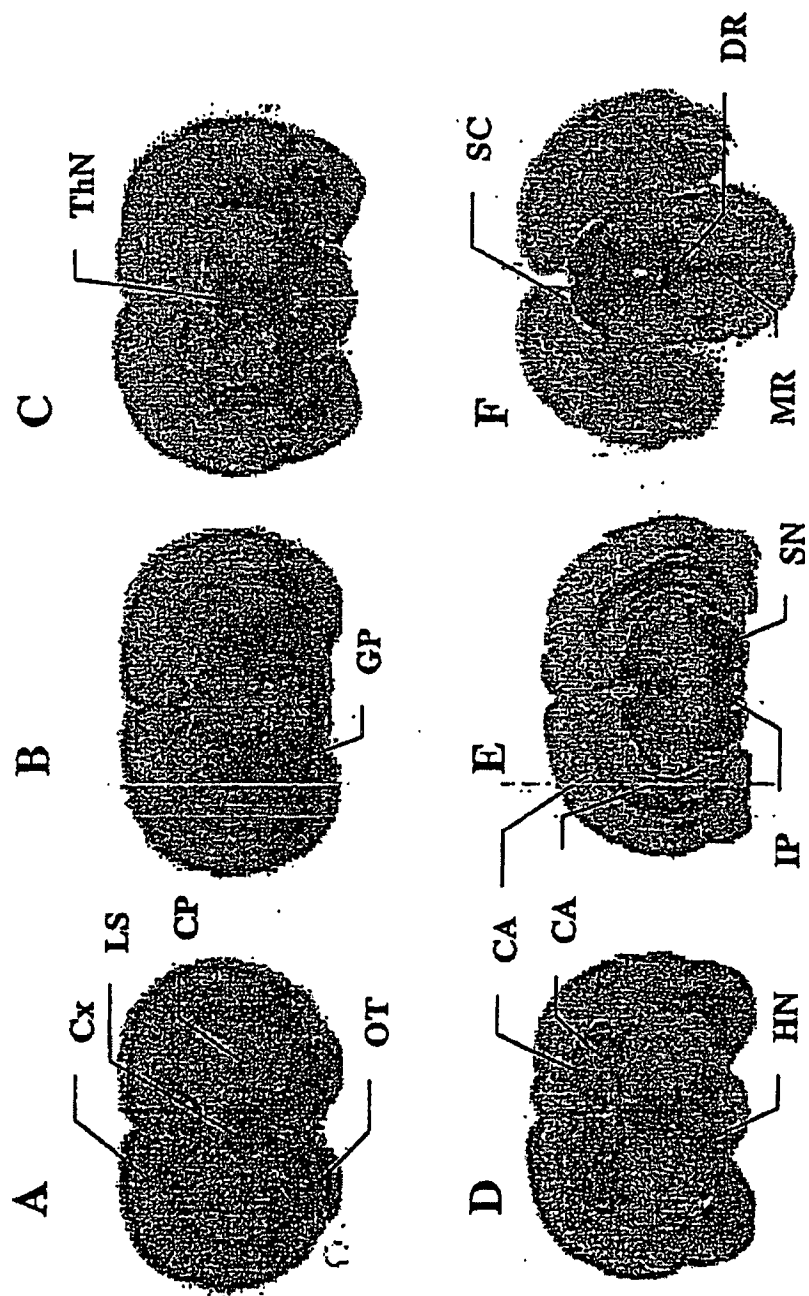


Fig. 5

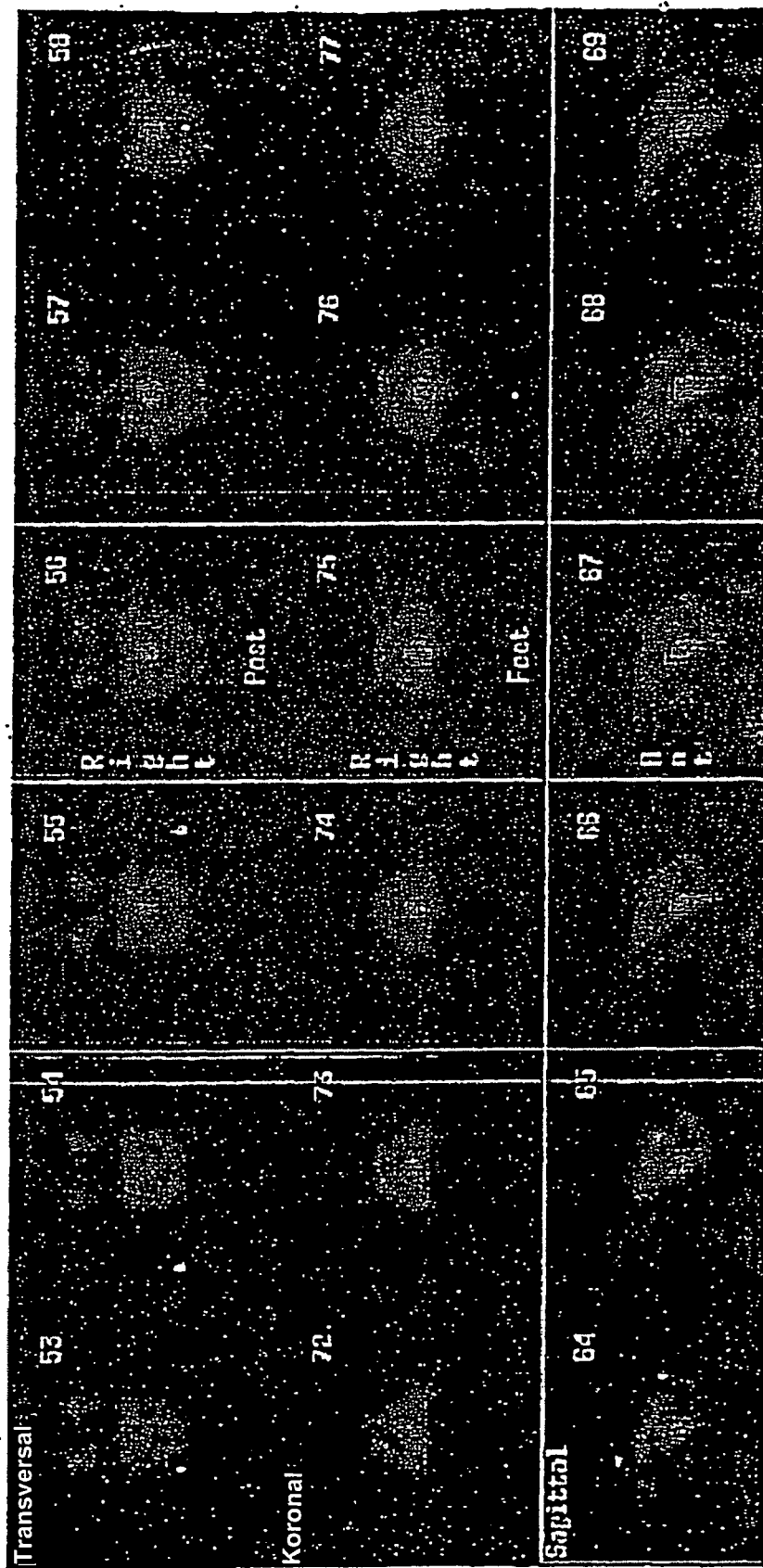
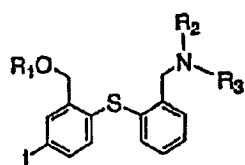


FIG. 6



Ia-c

R_1 : a: CH_3 , b: C_2H_5 , c: C_3H_7 R_1 : H

R_2 : CH_3

R_3 : CH_3

IIa-c

R_1 : H

R_2 : CH_3

R_3 : a: CH_3

b: C_2H_5

c: C_3H_7

IIIa-c

R_1 : CH_3

R_2 : CH_3

R_3 : a: CH_3

b: C_2H_5

c: C_3H_7

FIG. 7

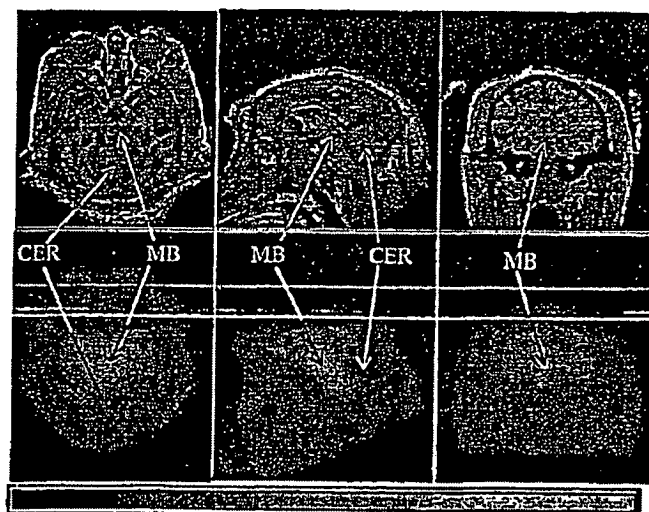


FIG. 8A

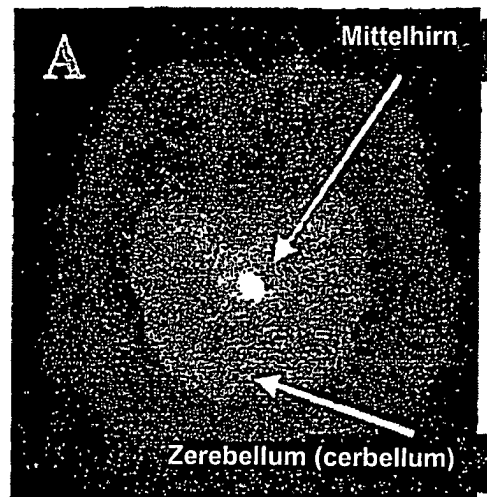


FIG. 8B

