



universität  
wien

# DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

## Untersuchungen zur Synthese eines MCH1-Rezeptor Antagonisten

Verfasserin

Elisabeth Lehner

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Pharmazie (Mag. pharm.)

Wien, 2013

Studienkennzahl lt. Studienblatt: A 449

Studienrichtung lt. Studienblatt: Diplomstudium Pharmazie

Betreuer: ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Helmut Spreitzer



gewidmet

Kevin Patrick Edmonds



## Vorwort und Danksagung

Der experimentelle Teil zu der vorliegenden Diplomarbeit wurde am Department für Arznei- und Naturstoffsynthese der Universität Wien im Zeitraum von 1.6.2009 bis 31.12.2009 durchgeführt.

Von ganzem Herzen möchte ich mich bei ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Helmut Spreitzer bedanken, der durch seine hervorragende Betreuung und ausgezeichnete kompetente fachliche Beratung zu jeder Zeit eine große Unterstützung war. Hervorzuheben ist weiters seine Begeisterung für die Wissenschaft, dadurch hat er mich unterstützt und mir für mein weiteres Berufsleben Wertvolles mitgegeben.

Weiterer Dank gebührt ao. Univ.-Prof. Dipl.-Ing. Dr. Wolfgang Holzer für die Aufnahme und Interpretation meiner NMR-Spektren.

Ganz speziell bedanke ich mich auch bei meiner Betreuerin MMag. Dr. Eva Schirmer, die mir mit ihrem großen Fachwissen zur Seite gestanden ist und mich mit besonderem Engagement durch die vorliegende Arbeit begleitet hat.

Ebenfalls bedanke ich mich bei Dr. Leo Jirovetz für die Aufnahme der DI-Massenspektren, Ing. Peter Unteregger für die Aufnahme der hochauflösenden Massenspektren, sowie Mag. Johannes Theiner für die Durchführung der Elementaranalysen.

All meinen großartigen Freunden und Studienkollegen, die ein wichtiger Teil in meinem Leben sind, möchte ich lieben Dank aussprechen.



## INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG .....	1
1.1	Adipositas.....	1
1.1.1	Adipositasklassifikation und Diagnostik.....	2
1.1.2	Risikofaktoren und Ursachen .....	4
1.1.3	Komorbiditäten.....	5
1.1.4	Therapiemöglichkeiten .....	7
1.2	Melanin-concentrating hormone (MCH).....	10
1.2.1	MCH-Rezeptor .....	15
1.2.2	MCHR-Antagonisten.....	20
1.2.2.1	MCHR1-Antagonist <i>rac</i> SNAP-7941 .....	22
1.3	Energiehomöostase .....	24
1.3.1	Zentrale Regulation der Energiehomöostase.....	24
1.3.2	Periphere Regulation über humorale Mediatoren.....	26
1.3.3	Neurotransmitter .....	28
1.4	Nuklearmedizin.....	31
1.4.1	Positronen-Emissions-Tomographie (PET) .....	31
1.4.1.1	Radioaktiver Zerfall.....	34
1.4.1.2	PET-Radiopharmaka.....	36
1.4.1.2.1	Herstellung der PET-Radionuklide .....	37
1.4.1.2.2	Markierungsmethoden für PET-Radiopharmaka .....	38
1.4.1.2.2.1	Markierung mit $^{11}\text{C}$ .....	38

1.4.1.2.2.2	Markierung mit $^{18}\text{F}$ .....	38
2	METHODEN UND UNTERSUCHUNGSVERLAUF .....	41
2.1	Zielsetzung.....	41
2.2	Synthesen.....	43
2.2.1	Darstellung des Allyloxyethylesters ALLOE-SNAP (3) .....	43
2.2.1.1	Synthese von 2-Allyloxyethyl-3-(3-brompropyl-carbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester (9).....	43
2.2.1.2	Darstellung von N-(3-(Piperidin-4-yl)phenyl)acetamid (14) .....	47
2.2.1.2.1	Synthese von <i>t</i> -Butyl-4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-carbonsäureester (13).....	47
2.2.1.2.2	N-(3-(Piperidin-4-yl)phenyl)acetamid (14) .....	49
2.2.1.3	Zusammenführung der Fragmente 9 und 14 zu ALLOE-SNAP: 2-Allyloxyethyl-3-(3-(4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-yl)propylcarbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester.....	50
2.2.2	Darstellung der Ethylderivate HE@SNAP und TOE@SNAP.....	52
2.2.2.1	Darstellung des Hydroxyethylesters HE@SNAP (4) aus dem Allyloxyethylester ALLOE-SNAP (3) .....	53
2.2.2.2	Darstellung des Tosyloxyethylesters TOE@SNAP (2) .....	57
3	EXPERIMENTELLER TEIL .....	59
3.1	Gerätedaten .....	59
3.2	Synthesen.....	61
3.2.1	Darstellung von Allyloxyethyl-SNAP (3).....	61

3.2.1.1	5-(2-Methoxyacetyl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxan-4,6-dion (6) .....	61
3.2.1.2	2-Allyloxyethyl-4-methoxy-3-oxobutansäureester (7) .....	62
3.2.1.3	2-Allyloxyethyl-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester (8) .....	64
3.2.1.4	2-Allyloxyethyl-3-(3-brompropylcarbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester (9) .....	66
3.2.1.5	Darstellung von N-(3-(Piperidin-4-yl)phenyl)acetamid.....	69
3.2.1.5.1	<i>t</i> -Butyl-4-(trifluormethylsulfonyloxy)-5,6-dihydropyridin-1(2H)-carbonsäureester (10).....	69
3.2.1.5.2	<i>t</i> -Butyl-4-(3-aminophenyl)-5,6-dihydropyridin-1(2H)-carbonsäureester (11) .....	70
3.2.1.5.3	<i>t</i> -Butyl-4-(3-acetamidophenyl)-5,6-dihydropyridin-1(2H)-carbonsäureester (12) .....	71
3.2.1.5.4	<i>t</i> -Butyl-4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-carbonsäureester (13).....	72
3.2.1.5.5	N-(3-(Piperidin-4-yl)phenyl)acetamid (14) .....	73
3.2.1.6	2-Allyloxyethyl-3-(3-(4-(3-acetamidophenyl)-piperidin-1-yl)propylcarbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester (3) .....	74
3.2.1.7	<i>trans</i> -2-(Prop-1-enyloxy)ethyl-3-(3-(4-(3-acetamidophenyl) piperidin-1-yl)propylcarbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester (15) .....	77
3.2.2	Darstellung der Ethylderivate HE@SNAP und TOE@SNAP.....	78
3.2.2.1	Darstellung von HE@SNAP (4).....	78
3.2.2.2	Darstellung von TOE@SNAP (2) .....	80

4	LITERATURVERZEICHNIS.....	84
5	ANHANG.....	101
5.1	Abkürzungen.....	103
5.2	Abkürzungen der SNAP-Derivate.....	109
5.3	Spektren.....	111
5.4	Curriculum Vitae.....	127

**TABELLEN- UND ABBILDUNGSVERZEICHNIS**

<b>Tabelle 1.</b> BMI-Klassifikation des Übergewichts und Adipositas .....	3
<b>Abbildung 1.</b> Pathophysiologie des metabolischen Syndroms (Insulinresistenz) .....	6
<b>Abbildung 2.</b> Immunhistochemische Lokalisationen MCH-produzierender Neurone	11
<b>Abbildung 3.</b> Proteinstruktur des Ratten-prepro-MCH (ppMCH).....	12
<b>Abbildung 4.</b> Schematische Darstellung: (a) humanes MCH und (b) Lachs-MCH .....	13
<b>Abbildung 5.</b> Knockout-Maus .....	14
<b>Abbildung 6.</b> Signaltransduktion des MCHR1 .....	17
<b>Abbildung 7.</b> 3D-Modell: MCHR1 und MCHR2.....	20
<b>Abbildung 8.</b> Hypothalamische Regulation der Nahrungsaufnahme .....	29
<b>Abbildung 9.</b> PET-CT .....	33



## ABSTRACT

Die Positronen-Emissions-Tomographie ist ein nicht-invasives bildgebendes Verfahren der Nuklearmedizin, das Schnittbilder lebender Organe erzeugt.

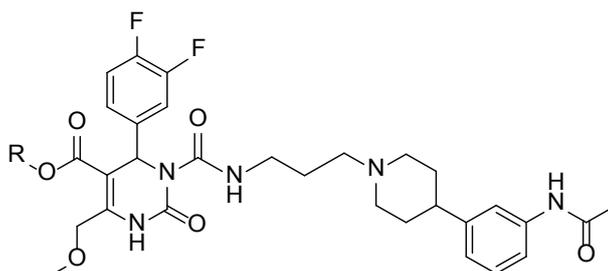
Diese Technik beruht auf der Verteilung einer positronenemittierten radioaktiven oder radioaktiv markierten Substanz im Organismus aufgrund deren eine dreidimensionale Darstellung des entsprechenden Gewebes möglich ist. Abgebildet werden Struktur und vor allem die Funktionen der Gewebe, wie biochemische und physiologische Vorgänge.

Die Zielsetzung der vorliegenden Diplomarbeit bestand darin, auf Basis des hochaffinen und selektiven MCH1-Rezeptor-Liganden *rac*SNAP-7941 **1** Vorstufen zur radioaktiven Markierung herzustellen.

Da in weiterer Folge an der nuklearmedizinischen Abteilung des AKHs radio-synthetisch mit einem geeigneten Nuklid, nämlich F[18], markiert wird, sollte ein tosyliertes Edukt **2** als Ausgangsverbindung hierfür dienen. Um dieses zu gewinnen, wurde ein allyloxyethylgeschütztes Derivat **3** von *rac*SNAP-7941 synthetisiert, die Schutzgruppe anschließend abgespalten und infolgedessen der Hydroxyethylester **4** von *rac*SNAP-7941 als Startmaterial für die Tosylierung zugänglich gemacht. Anschließend wurde die spektroskopische Analytik der neuen Substanzen vorgenommen.

Diese Syntheseroute konnte erfolgreich umgesetzt werden und erwies sich somit als vielversprechender Ansatz für zukünftige Untersuchungen auf diesem Gebiet.

- 1: R=CH<sub>3</sub>
- 2: R=(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OTs
- 3: R=(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OAllyl
- 4: R=(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OH





## ENGLISH SUMMARY

Positron emission tomography is a non-invasive imaging technique for nuclear medicine based diagnostics which produces sectional views of living tissue.

Attachment of a positron emitting, radioactive nuclide to a non-radioactive precursor produces radiotracers for diagnostic or therapeutic use. Distribution, receptor linkage and bioavailability of the radiotracer differ drug specifically after intravenously administration in living organisms.

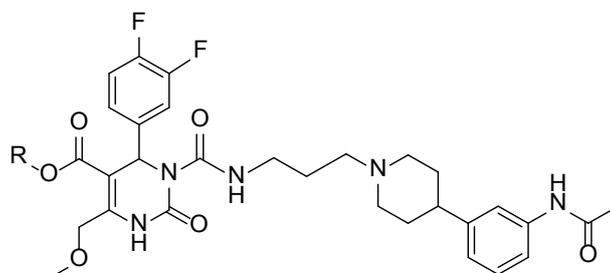
Hence, the three-dimensional pictures which are reconstructed after detection and localization of the nuclides display functional status as well as biochemical and physiological properties of the examined tissues.

The aim of this work was synthesizing a precursor for radioactive labeling with F[18] adapted from the high-affinity, selective MCHR1 antagonist *rac*SNAP-7941 **1**, namely tosylate **2**.

Therefore, allyloxyethyl was chosen as protecting group to form derivative **3**. After cleavage of the protecting group, hydroxyethyl derivative **4** could be easily obtained which serves as a starting material for tosylate **2**. All of the new compounds have been thoroughly spectroscopically analyzed.

The successful implementation of the new synthetic route to precursor **2** is very promising for further investigations concerning the MCH receptor.

- 1: R=CH<sub>3</sub>
- 2: R=(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OTs
- 3: R=(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OAllyl
- 4: R=(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OH





# 1 EINLEITUNG

## 1.1 Adipositas

Adipositas (lat. *adeps* = Fett) oder Fettleibigkeit ist eine häufige chronische Stoffwechselerkrankung, die ein gravierendes Problem der heutigen Gesellschaft weltweit darstellt. Sie resultiert aus einer Dysbalance zwischen Energiezufuhr und -verbrauch und geht mit einer pathologischen Vermehrung der Körperfettmasse über das normale Maß einher.<sup>2</sup>

Historisch betrachtet war Fettleibigkeit lange Zeit ein Schönheitsideal, besonders in Zeiten, in denen Nahrungsüberfluss ein den Reichen vorbehaltenes Privileg war. Vor allem galt Fettleibigkeit bei Frauen als Garant für Fruchtbarkeit und Gesundheit und war somit ein wichtiger sozioökonomischer Faktor in verschiedenen Kulturen.<sup>2</sup>

In der öffentlichen Meinung gilt Adipositas heutzutage als stigmatisierend, den betroffenen Personen wird häufig alleine die Schuld zugeschrieben, selbst Mediziner werten sie oft nicht als ernstzunehmende Diagnose, obwohl Adipositas als Krankheit gilt und bereits in der weltweit gültigen International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems (ICD-10) unter dem Schlüssel E.66 vermerkt ist. Sie ist nachweislich mit vielen Krankheitsbildern vergesellschaftet, die die Sterblichkeit erhöhen.<sup>3</sup>

Laut der rezentesten Publikationen steigt die Prävalenz der Adipositas jährlich.<sup>4</sup> Die Daten der World Health Organization (WHO) zeigen, dass die Prävalenz der Adipositas

sich seit 1980 mehr als verdoppelt hat und dass 2008 mehr als 1.4 Milliarden Erwachsene im Alter von über 20 Jahren übergewichtig waren. Von diesen sind über 200 Millionen Männer und fast 300 Millionen Frauen adipös. Weiters steht fest, dass 65% der Weltbevölkerung in Ländern leben, in denen mehr Menschen an Übergewicht versterben, als an Untergewicht.<sup>5</sup>

### 1.1.1 Adipositasklassifikation und Diagnostik

Die erhöhte Fettakkumulation, die sich hinsichtlich des Schweregrades in Übergewicht und Adipositas differenziert, wird unter anderem mithilfe des Body-Mass-Index (BMI)<sup>6</sup> klassifiziert.

Es handelt sich hierbei um die gängigste Methode zur Diagnose von Übergewicht und Adipositas von Erwachsenen und wird als Quotient aus Kilogramm (kg) Körpergewicht und dem Quadrat der Körpergröße in Metern (m) definiert.<sup>6</sup>

$$BMI = \frac{kg}{m^2}$$

Die WHO definiert einen BMI größer oder gleich  $25 \text{ kg/m}^2$  als übergewichtig, ab BMI  $35 \text{ kg/m}^2$  spricht man von Adipositas.

Um eine aussagekräftige Beurteilung in Bezug auf die Stadieneinteilung der Adipositas durchführen zu können, ist die ausschließliche Bestimmung des BMI nicht ausreichend, da nur Gewicht und Körpergröße berücksichtigt werden, unabhängig davon, ob das Gewicht durch Muskelmasse oder interponiertes Fett verursacht wird.

Besonders ungenau ist die Diagnostik der Fettleibigkeit anhand des BMI bei mittleren BMI-Werten (25.0-29.9 kg/m<sup>2</sup>), bei Männern und bei älteren Personen.<sup>7</sup>

Weitere Methoden, wie die Messung des Taillenumfangs, die Ermittlung des Quotienten aus Taillen- und Hüftumfang (Waist-Hip-Ratio, WHR) oder Taillenumfang und Körpergröße (Waist-Height-Ratio, WHtR) können für die graduierte Klassifizierung herangezogen werden. In Anbetracht des Taillenumfangs steigt das adipositas-assoziierte Erkrankungsrisiko ab einem Maß von 80 cm bei Frauen und ist signifikant erhöht ab Werten über 88 cm, für Männer gelten 94 cm beziehungsweise 102 cm.<sup>8</sup> Laut Schneider et al.<sup>9</sup> repräsentiert WHtR den besten Prädiktor für das kardiovaskuläre Risiko und die Mortalität, gefolgt von Taillenumfang und WHR. Der BMI sollte nicht zur Diagnostik verwendet werden.

Komplexere und aufwendige Zugangsweisen zur Bestimmung der Körperfettmasse sind die Dual-energy X-ray absorptiometry (DEXA)<sup>10</sup>, die als Goldstandard gilt, sowie die Hydrodensitometrie.<sup>11</sup> Diese Messmethoden gehen mit einer Strahlenbelastung einher und sind nur mit teuren Apparaturen möglich.

KLASSIFIKATION	BMI (kg/m <sup>2</sup> )	Adipositasgrad
Untergewicht	<18.5	
Normalgewicht	18.5-24.9	
Übergewicht	25.0-29.9	
Adipositas	30.0-34.9	Grad I
Adipositas	35.0-39.9	Grad II
Extreme (morbide) Adipositas	>40	Grad III

**Tabelle 1.** BMI-Klassifikation des Übergewichts und Adipositas (adaptiert nach Slawik<sup>12</sup>)

## 1.1.2 Risikofaktoren und Ursachen

Das multifaktoriell bedingte Risiko an Adipositas zu erkranken, gründet sich auf genetischer Disposition, physiologischen, psychologischen Faktoren und geringen sozioökonomischem Status.<sup>13</sup> Im Gegensatz dazu sind beeinflussbare Faktoren wie inaktiver Lebensstil, geprägt durch verminderte körperliche Aktivität und hochkalorische Ernährung, die auf vitamin- und ballaststoffarmen und vorwiegend fett- und zuckerhaltigen Nahrungsmitteln basiert, bekannt.<sup>14-16</sup>

Analog zur Einteilung vieler Krankheitsbilder kann man Adipositas auch in eine primäre, auf einer multifaktoriellen Genese basierten Erkrankung und eine sekundäre Form einteilen. Die sekundäre Form ist auf andere Grunderkrankungen mit Störungen der Fetthomöostase zurückzuführen, wie Morbus Cushing<sup>17</sup>, dem mit zum Teil hypothalamischen Funktionsstörungen assoziiertem Prader-Willi-Syndrom (PWS)<sup>18</sup> oder dem Bardet-Biedl-Syndrom (BBS).<sup>19</sup>

Schlafmangel wird ebenso mit Steigerung des Körpergewichts in Verbindung gebracht. Wissenschaftliche Untersuchungen haben ergeben, dass die Anzahl der Stunden an Schlaf pro Nacht negativ mit dem BMI korreliert<sup>20</sup> und dass zu wenig Schlaf zu einem gesteigerten Hungergefühl führen und zudem appetitanregend wirken kann.<sup>21</sup>

Zu einer iatrogenen Gewichtszunahme kann es sekundär durch Pharmaka kommen, von denen besonders Psychopharmaka<sup>3,22</sup>, Antihypertensiva, Steroidhormone, Kontrazeptiva, Antihistaminika und Protease-Inhibitoren evident adipogen wirken.<sup>23</sup>

Eine weitere pharmakon-induzierte Zunahme des Körperfettanteils, verursacht durch Antidiabetika, antagonisiert ihren positiven Effekt auf den Glukose-Stoffwechsel, der bei Diabetes mellitus pathologisch verändert ist und erhöht gleichsam das kardiovaskuläre Risiko, das bei den großteils übergewichtigen Diabetikern bereits primär gesteigert ist.<sup>24</sup>

Infektionen, insbesondere ausgelöst durch humanes Adenovirus-36 (Ad-36), spielen möglicherweise eine unterschätzte Rolle in der Ätiologie der Adipositas, da belegt ist, dass Ad-36 mittels metabolischen und molekularen Mechanismen Übergewicht in Labortieren verursacht<sup>25,26</sup> und adipöse Individuen eine erhöhte Wahrscheinlichkeit haben, mit Ad-36 infiziert zu sein.<sup>27</sup>

### 1.1.3 Komorbiditäten

Das komplexe Krankheitsbild der Adipositas, die als Multisystemerkrankung gilt, ist mit einer Reihe von Folgeerkrankungen vergesellschaftet, aufgrund deren die Mortalität<sup>28-33</sup> gesteigert und die Lebensqualität erheblich eingeschränkt ist und deren Inzidenz mit Erhöhung des BMI positiv korreliert.<sup>34-36</sup>

Das metabolische Syndrom<sup>37,38</sup> ist ein Symptomenkomplex bestehend aus Insulinresistenz, Lipidstoffwechselstörung und arterieller Hypertonie<sup>39</sup>, kombiniert mit viszeraler (abdomineller) Adipositas.

Die Pathogenität geht unter anderem mit einer Insulinresistenz einher, die einen Überfluss an zirkulierenden freien Fettsäuren zur Folge hat, der dadurch begründet ist, dass durch Insulinresistenz die antilipolytischen Effekte von Insulin<sup>40</sup> aufgehoben



Mit Adipositas assoziiert ist eine Prädisposition für eine vermehrte Inzidenz von onkologischen Erkrankungen, die gehäuft als Mamma-, sowie Uterus-Karzinome manifestiert sind, zu nennen. Gastrointestinale maligne Tumorformen, insbesondere Oesophagus- und Kolorektal- Karzinom<sup>51</sup>, könnten überdies mit Adipositas in Verbindung gebracht werden.<sup>52</sup>

Neben endokrinen Störungen, vorwiegend als Hyperandrogenämie und polyzystisches Ovarialsyndrom (PCOS),<sup>53</sup> das initial durch eine erhöhte Produktion von Androgenen bedingt ist, treten zudem gastrointestinale Komplikationen, wie Cholecystolithiasis mit chronisch erhöhter biliärer Cholesterinausscheidung, nichtalkoholische Steatohepatitis (NASH)<sup>54</sup> und ebenso Refluxerkrankungen, durch erhöhten abdominellen Druck, in hoher Zahl auf.<sup>55</sup>

Obstruktives Schlafapnoe-Syndrom (OSAS) und erhöhte Schlafneigung (Pickwick-Syndrom) sind als pulmonale Komplikationen anzuführen.<sup>56,57</sup>

Nicht zuletzt leidet auch der Bewegungsapparat unter der Überlastung, bedingt durch das hohe Körpergewicht, dies äußert sich in degenerativen Gelenkerkrankungen wie vertebrale Osteochondrosen oder Cox- und Gonarthrosen.<sup>34,54</sup>

### **1.1.4 Therapiemöglichkeiten**

Integraler Bestandteil der Adipositastherapie mit dem langfristigen Ziel der Stabilisierung der Lebensstiländerung und gleichsam Senkung von Inzidenz und Prävalenz von adipositasbedingten Folgeerkrankungen ist vor allem die effektive Gewichtsreduktion durch Dezimierung der Kalorienaufnahme und Bewegungs-

intervention in Form von körperlicher Aktivität<sup>58,59</sup>. Sämtliche positive Eigenschaften der holistischen Therapie, wie lipidsenkende, verdauungsanregende, appetithemmende und antidepressive Effekte werden somit ermöglicht.

Unterstützend ist medikamentöse Therapie mit Antiadiposita mit den Substanzen Orlistat<sup>60-62</sup> zur effektiven Senkung der Fettreduktion und Sibutramin<sup>63-65</sup>, welches aufgrund der appetitmindernden Wirkung eingesetzt wird, möglich. Bislang war mit Rimonabant<sup>66,67</sup> ein weiteres Präparat verfügbar, das - wie alle oben genannten - aufgrund des ungünstigen Nutzen-Risiko-Verhältnisses vom Markt genommen wurde.<sup>68</sup>

Darüber hinaus bieten sich als Alternativvariante chirurgische Interventionen an, die im Anschluss an konservative gewichtsreduzierende Strategien oder gegebenenfalls auch ergänzend veranlasst werden können, da die klassische antiadipöse Therapie limitiert ist. Die bariatrische Chirurgie<sup>69-71</sup> unterteilt sich derzeit in malabsorptive, die Resorption von aufgenommenen Kalorien verhindernde Variante und nahrungstriktive Eingriffe, die Kalorienzufuhr vermindern wirken. Häufig wird eine Kombination beider Verfahren angewandt.

Malabsorptive Operationsmethoden, die laparoskopisch<sup>72</sup> durchgeführt werden, beinhalten die Biliopankreatische Diversion (BPD),<sup>73-75</sup> mit der Weiterentwicklung des Duodenal Switch, wo die große Kurvatur des Magens reseziert wird und aus dem verbleibenden Rest ein Magenschlauch mit geringem Fassungsvermögen präpariert wird.<sup>76,77</sup>

Daneben wird bei der häufig ergänzend durchgeführten vertikalen bandverstärkten Gastroplastik der Magen permanent in zwei Kompartimente gegliedert, das in frühem Sättigungsgefühl und Volumenrestriktion resultiert.

Weiterführend hat sich die Magen-Sleeve-Resektion<sup>78-80</sup> etabliert, die die Entfernung des Hauptteiles des Magens, Corpus und Fundus, zur Folge hat. Zurück bleibt dabei ein Magenschlauch, der eine deutliche Einschränkung der Magenkapazität bedingt.

Gastric Banding, ein weiteres wichtiges Element, erfolgt anhand einer Implantation eines verstellbaren Magenbandes. Es gilt dementsprechend als besonders sicheres und effektives Vorgehen, da die Anatomie, sowie die Verdauungsphysiologie intakt bleiben.

Bisherige Erfahrungen, die anhand hervorragender Langzeitergebnisse beschrieben sind, zeigen, dass laparoskopische bariatrisch-chirurgische Eingriffe die beste und wirkungsvollste Behandlungsweise der extremen morbidem Adipositas mit BMI > 40 kg/m<sup>2</sup> repräsentieren.

Aufgrund der Komplexität der Erkrankung ist die Therapie sehr vielseitig angelegt. Zum gewünschten Erfolg kann nur ein umfassendes Konzept mit entsprechenden Lebensstilmodifikationen mittels individualisierten diätetischen Ernährungsmaßnahmen und an die größtenteils bestehende eingeschränkte körperliche Funktionsfähigkeit angepasste Bewegungstherapie maßgeblich beitragen.

## 1.2 Melanin-concentrating hormone (MCH)

Melanin-concentrating hormone (MCH), ebenso als melaninkonzentrierendes Hormon bezeichnet und erstmals 1983 sequenziert, ist ein orexigenes, zyklisches Heptadekapeptid, das in der Hypophyse von Teleostei (Echte Knochenfische) sezerniert wird und dem eine Rolle in der Regulation der Pigmentanpassung von Fischen, Amphibien und Reptilien zukommt.<sup>81</sup>

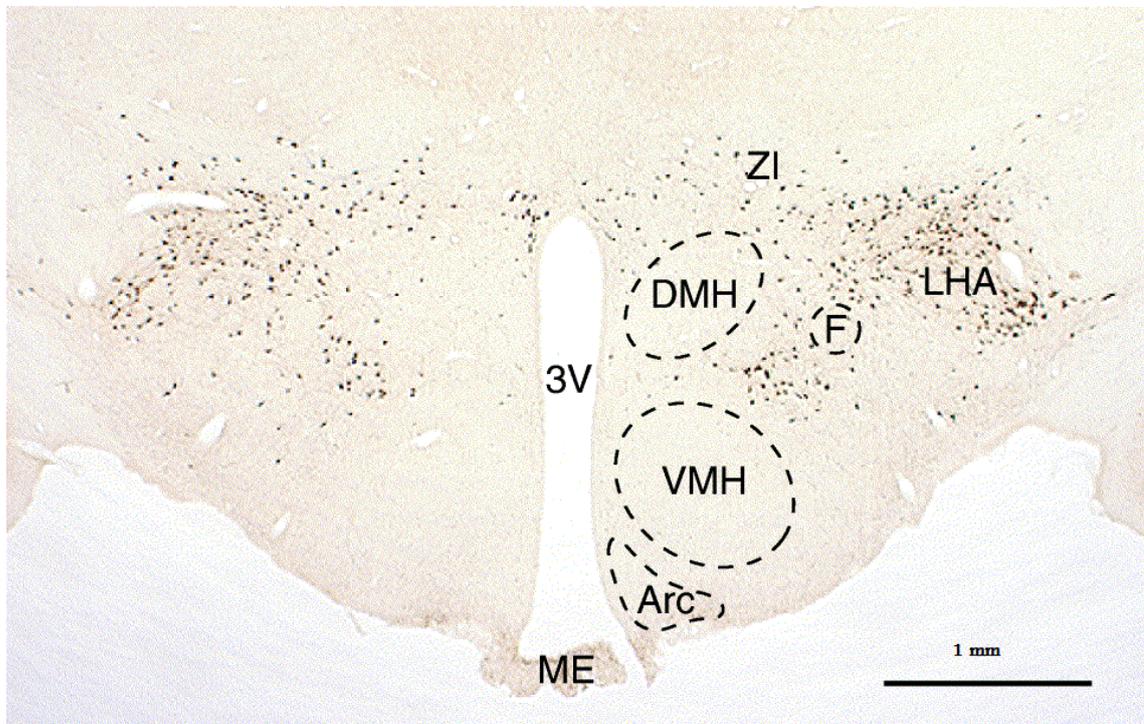
Bei Knochenfischen wird eine Aggregation von Melaningranula durch MCH beschrieben, während es bei Reptilien und Amphibien zu gegensätzlichen Effekten kommt.<sup>82,83</sup>

In vitro Studien beschreiben, dass MCH in Teleostei ein potenter Inhibitor der Corticotropin Releasing Factor (CRF)-induzierten Adrenocorticotropen Hormon (ACTH)-Ausschüttung in der Hypophyse darstellt<sup>82,83</sup>, in Ratten hingegen wird ein ähnlicher, jedoch schwächer ausgeprägter Effekt beobachtet.<sup>84</sup>

Mithilfe eines Antiserum gegen Lachs-MCH (sMCH) wurde das Vorkommen von MCH-immunreaktiven Zellen im ZNS von verschiedenen Vertebraten (Wirbeltieren) und Mammalia (Säugetieren) nachgewiesen. Eine signifikante Anhäufung von solchen Neuronen wurde bei Ratten, als auch beim Menschen im Dienzephalon, insbesondere in bestimmten Regionen des lateralen Hypothalamus (lateral hypothalamic area, LHA) sowie der rostromedial situierten Zona incerta lokalisiert.<sup>85-87</sup>

Das Dienzephalon, bestehend aus vier Komponenten, namentlich Thalamus, Subthalamus, Hypothalamus und Epithalamus, ist eine Struktur am kranialen Ende

des Truncus cerebri (Hirnstamm), unterhalb des Cerebrums und umschließt den 3. Ventrikel.<sup>88</sup>



**Abbildung 2.** Immunhistochemische Lokalisationen MCH-produzierender Neurone (schwarze Punkte) im Gehirn der Ratte.

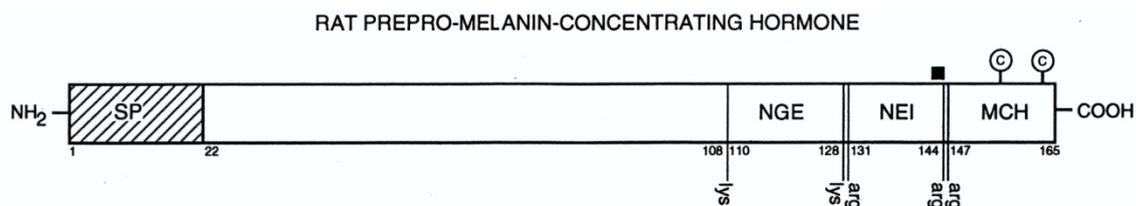
Abkürzungen: 3V = 3. Ventrikel; ARC = Nucleus arcuatus; DMH = dorsomedialer Hypothalamus; F = Fornix; LHA = lateral hypothalamic area; ME = Eminentia mediana; VMH = rostromedialer Hypothalamus; ZI = Zona incerta<sup>89</sup>

cDNA-Klonierung des MCH-Precursors, exprimiert in Perikarya des Hypothalamus<sup>85,90</sup> von Ratten, wies auf ein Nonadekapeptid (rMCH) hin, dessen Struktur dem sMCH sehr ähnelt.<sup>86,91</sup>

Bittencourt et al.<sup>92</sup> zeigten in ihren immunhistochemischen und Hybridisierungsstudien, dass der Precursor präproMCH (ppMCH) nicht nur für MCH selbst kodiert, sondern zusätzlich die Neuropeptide EI (NEI)<sup>93</sup> und Neuropeptid GE (NGE) beinhaltet.

Direkt vor dem Abschnitt, der für MCH kodiert, befindet sich eine 14 Aminosäuren lange Peptidsequenz, die von basischen Resten flankiert ist und C-terminal eine Amidierungsstelle trägt. Aufgrund der beinhaltenden Aminosäuren, wurde das Peptid anhand der gängigen Nomenklatur für Aminosäuren Neuropeptid EI<sup>86</sup> genannt. (E = Glutaminsäure, I = Isoleucin)

Der NEI-Sequenz vorangehend ist eine aus 19 Aminosäuren bestehende Sequenz, benachbart von mono- und dibasischen Resten, die das Neuropeptid GE definiert. (G = Glyzin)



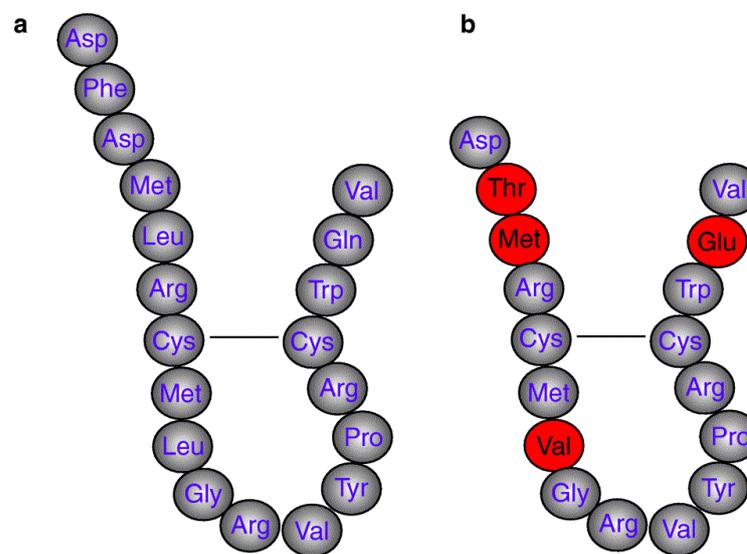
**Abbildung 3.** Proteinstruktur des Ratten-prepro-MCH (ppMCH)

Sichtbar am Amino-Terminus ist das Signal-Peptid (SP) und die MCH-, NEI- und SGE-Sequenzen am Carboxy-Terminus. Die senkrechten Linien stellen die Spaltungsstellen proteolytischer Enzyme dar. Es sind weiters Cystein-Reste (©) und eine Amidierungsstelle (■) eingezeichnet.<sup>92</sup>

Während die Funktion all dieser Peptide, die aus ppMCH hervorgehen, innerhalb von Säugetieren unklar ist, kristallisiert sich ein Hauptzentrum dieser Zellen im lateralen Hypothalamus, der eine Vielzahl von Funktionen wie Verdauung, sensomotorische Vernetzung, Erregung und autonomer Regulation<sup>94</sup>, innehat, heraus. Durch die extensive Verflechtung der Projektionsfasern<sup>92</sup> mit dem medial-forebrain-bundle (MFB), als wohl komplexestes Fasersystem des Säugetier-ZNS, stellen Studien in diesem Bereich eine schwierige Aufgabe dar.<sup>95,96</sup>

Laut Vaughan et al.<sup>91</sup>, Presse et al.<sup>97</sup> und Nahon et al.<sup>98</sup> ist die Sequenzfolge des MCH-Proteins von Maus, Ratte, Hase (Nagetiere) strukturell identisch mit humanem MCH

und weist eine hohe Homologie zum Lachs-MCH auf, die sich nur durch die Addition von zwei N-terminalen Aminosäuren unterscheidet, wobei die charakteristische Schleifenstruktur erhalten bleibt. Die Relevanz von MCH in Säugetieren, wie Mäusen, Ratten, Affen und letztendlich auch dem Menschen ergibt sich aus der Steuerung der Energiehomöostase sowie der Regulation des Körpergewichts, weiters sind mittlerweile auch periphere Funktionen bekannt.<sup>99</sup>



**Abbildung 4.** Schematische Darstellung: (a) humanes MCH und (b) Lachs-MCH

Die unterschiedlichen Aminosäuresequenzen sind rot markiert. Lachs-MCH ist um zwei Aminosäuren kürzer als humanes MCH.<sup>89</sup>

Rossi et al.<sup>100</sup> publizierten eine Studie, die bestätigt, dass das orexigen wirkende MCH zu einer Zunahme der Futterkonsumation in Ratten führt, denen intracerebroventriculär (i.c.v) 5 µg MCH appliziert wurde.

ob/ob-Mäuse gehören zu den sogenannten gentechnisch veränderten Knockout Versuchstieren, bei denen das sogenannte ob-Gen (obese-Gen) mittels Punktmutation verändert und somit inaktiviert wird. Dieses Gen codiert ein Protein, Leptin (griech. λεπτός = leicht), ein von Adipozyten sezerniertes Hormon, das mit MCH in

dem Sinne in engem Zusammenhang steht, als mittels RT-PCR nachgewiesen wurde, dass die Transkription von pro-MCH mRNA in Leptin-defizienten homozygoten ob/ob Mäusen zunimmt.<sup>101</sup>



**Abbildung 5.** Knockout-Maus

Links eine ob/ob-Knockout Maus verglichen mit einer normalen Maus<sup>102</sup>

Eine gentechnische Alternative bietet die transgene Überexpression des orexigenen MCH in Mäusen (MCH-OE Maus, OE = overexpressing), die hyperphagisch und hyperleptinämisch sind, sowie einen höheren Blutglucosespiegel aufweisen. Darüber hinaus wurde bei den MCH-OE Mäusen ein signifikant gehäuftes Auftreten einer Hyperinsulinämie detektiert und zudem blieb die physiologische Reaktion auf Insulingabe aus, welches Diabetes mellitus als Begleiteffekt der Adipositas zusätzlich nahelegt.<sup>103</sup>

### 1.2.1 MCH-Rezeptor

Wusste man bereits in den frühen 80er Jahren von dem Peptidhormon MCH und seiner Sequenzierung, so wurde erst 1999 ein Wirkort des Neuropeptids entdeckt, an welchem eine hoch affine Bindung nachgewiesen werden konnte.<sup>104-108</sup>

Der Melanin-concentrating-hormone receptor 1 (MCHR1) gehört zur Familie der G-Protein gekoppelten Rezeptoren (GPCR),<sup>106</sup> ist strukturell ident mit dem (Orphan-Rezeptor) Somatostatin-like receptor (SLC-1)<sup>109</sup> und ist auf Chromosom 22q13.3 lokalisiert.<sup>110</sup> Die Länge der Aminosäuresequenz beträgt 353 und das Protein weist die klassischen Charakteristika der Rezeptorfamilie, wie die 7-transmembranären  $\alpha$ -Helices, das DRY-Motiv am Ende der dritten intrazellulären Schleife und drei potentielle Glykosylierungsstellen am N-Terminus auf.

Beim Vergleich von humanem und Nagetier-MCHR1 ist bemerkenswert, dass eine bis zu 96-prozentige Homologie zwischen diesen Spezies zu erkennen ist.<sup>107,111</sup>

Im Allgemeinen handelt es sich bei G-Proteinen um Peptide, die abhängig von Guanosintriphosphat (GTP) in der Zellwand für den Informationsaustausch zwischen Extra- und Intrazellularraum verantwortlich sind. Bindet ein Ligand an die extrazelluläre Bindungstasche, kommt es zu einer Konformationsänderung des G-Proteins, welche eine Signaltransduktion im Inneren der Zelle zur Folge hat, die wiederum eine Zellantwort auslöst. Es ist eine Unmenge von verschiedenen G-Proteinen bekannt, die je nach Untergruppe aufgrund einer hochaffinen Bindung eines Liganden unterschiedliche Kaskaden triggern. Sie nehmen in nahezu jedem erdenklichen physio- und pathophysiologischen Vorgang eine zentrale Rolle ein.<sup>111</sup>

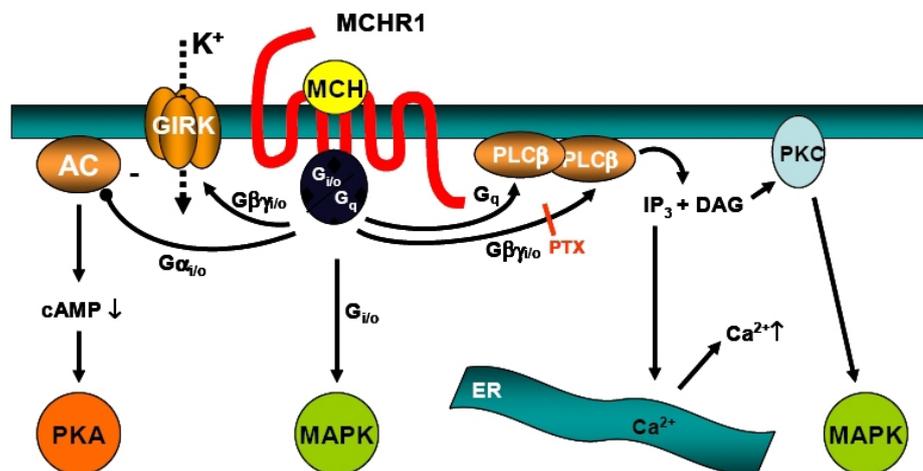
MCHR1 koppelt unter anderem an  $G_i$ -Proteine, die innerhalb der Zelle die Adenylatcyclase (AC) und somit die Umwandlung von Adenosintriphosphat (ATP) zu zyklischem Adenosinmonophosphat (cAMP) hemmen, damit die intrazelluläre  $Ca^{2+}$ -Konzentration durch Freisetzung aus dem endoplasmatischen Retikulum (ER) erhöhen und die Proteinkinase A (PKA) inhibieren. cAMP ist ein sogenannter second messenger, der eine Phosphorylierung von Proteinen und somit eine Aktivierung beziehungsweise Deaktivierung derselben zur Folge hat, die letztendlich über die Zellantwort entscheidet, wie beispielsweise die Transkription bestimmter Gene und die Zustandsänderung (Öffnen und Schließen) bestimmter Ionenkanäle in der Zellmembran.<sup>112</sup>

Anhand der Ähnlichkeit zu SLC-1, die  $G_i$ -gekoppelt sind, wurde zuerst vermutet, dass MCHR1 ausschließlich an solchen wirksam sein kann. Erst später wurde erkannt, dass der Rezeptor auch an andere G-Proteine,  $G_o$  und  $G_q$ , binden kann<sup>111</sup>, wobei die mittlere effektive Konzentration ( $EC_{50}$ ) gemessen an Hemmung der cAMP-Bildung und Steigerung der  $Ca^{2+}$ -Konzentration darauf schließen lässt, dass die Bindung zu  $G_i$ - stärker als jene zu  $G_q$ -Proteinen ist.

Letztere lösen im Unterschied zu den vorher genannten Varianten als Signalkaskade die Aktivierung der Phospholipase C (PLC) aus, die Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat ( $PIP_2$ ) zu Inositoltriphosphat ( $IP_3$ ) und Diacylglycerin (DAG) hydrolysiert.

Die Hauptfunktion des second messengers  $IP_3$  ist eine Ausschüttung von  $Ca^{2+}$  aus den intrazellulären Speichern im endoplasmatischen Retikulum. Calciumionen sind oft am Ende von Signalkaskaden aktiv und für eine Reihe wichtiger Reaktionen, wie für die Muskelkontraktion, die Mitose, die Expression von Genen und zahlreiche andere elementare Abläufe verantwortlich.<sup>113-116</sup>

DAG verweilt als hydrophobes Spaltprodukt in der Zellmembran und aktiviert wiederum die Proteinkinase C, welche in weiterer Folge zur Phosphorylierung und Aktivierung von Proteinen führt.<sup>116</sup>



**Abbildung 6.** Signaltransduktion des MCHR1

Der MCHR1 koppelt über verschiedene G-Proteine und löst in Folge Signalkaskaden aus.<sup>117</sup>

Die Zustandsänderung der Ionenkanäle in der Zellmembran, die durch die G-Proteine ausgelöst werden, resultiert in der Hemmung der synaptischen Reizleitung. Gao et al.<sup>118</sup> beschrieb im Jahr 2002 eine Hemmung von spannungsabhängigen  $\text{Ca}^{2+}$ -Kanälen in Neuronen des lateralen Hypothalamus.

Am häufigsten ist MCHR1 im Gehirn anzutreffen, viel seltener in anderen Geweben, wie im Muskel, im Auge, der Zunge und dem Fettgewebe.<sup>107</sup> Die Lokalisation des MCHR1 im Gehirn wurde vielfach im Tierversuch an der Ratte untersucht,<sup>109,119</sup> wobei Anhäufungen im Cortex, den Basalganglien, dem Hypothalamus und dem Hirnstamm dokumentiert sind.

Das Vorkommen von MCHR1 im Nucleus arcuatus (ARC) und Nucleus ventromedialis (VMH) des Hypothalamus<sup>120</sup> erklärt die Regulation der Nahrungsaufnahme sowie der Energiebalance durch MCH, wobei das Neuropeptid am meisten in extrahypothalamischen Arealen (Nucleus olfactorius anterior, Cortex piriformis und Tuberculum olfactorium, OT), die olfaktorische Informationen beinhalten, anzutreffen ist.

Auffallend hohe Konzentrationen sind in der Schalenregion des Nucleus accumbens anzutreffen, wo unter anderem die Steuerung des willkürlichen Belohnungsverhaltens, zu dem die Nahrungsaufnahme zählt, stattfindet. Zudem ist MCH auch signifikant in Amygdala und Hippocampus präsent, potentiell hinweisend auf die von MCH regulierten Emotionen wie Angst und Gedächtnisregulation.

Weitere große Tierversuchsstudien an Mäusen, in denen man belegen konnte, dass die Expression durch Fasten erhöht und durch Leptin-Applikation wieder gesenkt werden kann, weisen auf einen Zusammenhang zwischen Expression von MCHR1 und Energiebalance hin<sup>121</sup>. Durch gentechnische Inaktivierung von MCHR1 in Mäusen erzielte man einen mageren Phänotyp, erhöhte Aktivität und Hyperphagie bei konstanter Nahrungsmenge im Vergleich zur Kontrollgruppe. Bei Elevation der Nahrungsmenge wurde bewiesen, dass MCHR1-defiziente Mäuse signifikant langsamer Gewicht zulegten und folglich durch Inaktivierung von MCHR1 eine protektive Wirkung vor nahrungsmittelbedingter Adipositas erreicht wird.<sup>122</sup>

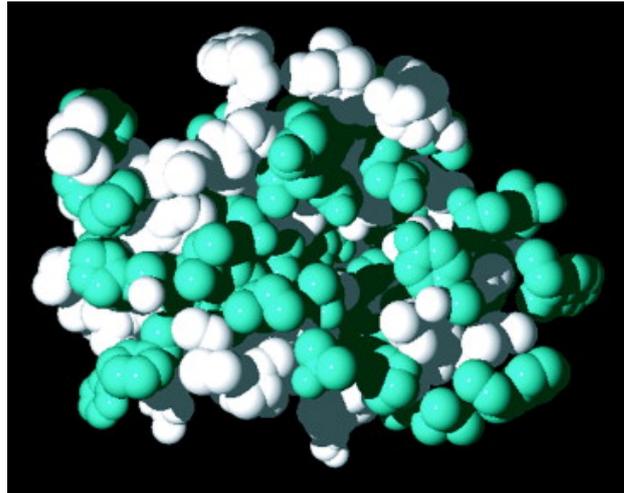
Der Mechanismus, dem die Effekte des MCH auf die Energiebalance unterliegen, ist noch nicht restlos aufgeklärt. Nahrungsaufnahme, motorische Aktivität und Energiegrundumsatz sind wesentlich involviert, wobei zu unterscheiden ist, ob MCH oder

MCHR absent ist. Die Diskrepanz manifestiert sich im hyperphagischen, hypermetabolischen und aktiveren Phänotyp bei MCH-Defizienz, andererseits bei mangelndem MCHR1 durch Hypophagie und Elevation des Energieumsatzes.

Zwei Jahre nach der MCHR1-Sequenzierung wurde ein weiterer Rezeptor entdeckt, an den MCH mit hoher Affinität binden kann. MCHR2 hat 340 Aminosäuren und ist chromosomal auf 6q16.2-6q21 lokalisiert.<sup>123-128</sup> Interessanterweise teilen die zwei Rezeptor-Subtypen nur 38% der Aminosäuren, am ähnlichsten sind die Anteile, die die Bindungstasche für Liganden bilden. Die nahe Verwandtschaft äußert sich im fast identischen Verteilungsmuster, so trifft man MCHR2 gehäuft im Gehirn, besonders im frontalen Cortex, der Amygdala und dem Nucleus accumbens an.<sup>123,124,128</sup>

Kleine Mengen wurden im Darm, im Fettgewebe und der Prostata gefunden.<sup>128</sup> Erstaunlich ist die hohe vorliegende Spezifität, die durch Studien von Tan et al.<sup>129</sup> beschrieben wurde, nach denen Nagetiere MCHR2 nicht vorweisen können. Bei Meerschweinchen und Hasen liegen nur nicht-funktionelle Allele des Rezeptors vor. Carnivoren, wie Hunde und Frettchen, sowie Affen als auch der Mensch besitzen beide Rezeptoren.

Biochemisch betrachtet unterscheidet sich MCHR2 von MCHR1 durch die fehlende Fähigkeit, cAMP-Konzentrationen zu senken und durch die Unempfindlich gegenüber Pertussis-Toxin, was auf eine ausschließliche Kopplung mit  $G_q$ -Proteinen schließen lässt.<sup>123,124,128</sup>



**Abbildung 7.** 3D-Modell: MCHR1 und MCHR2

Die übereinstimmenden Aminosäuresequenzen sind grün gefärbt.<sup>89</sup> Modellentwurf durch Guex<sup>130</sup>

## 1.2.2 MCHR-Antagonisten

Die vielfältigen Wirkungen des Neuropeptids MCH, die aufgrund intensiver wissenschaftlicher Arbeiten in den letzten Jahrzehnten immer genauer untersucht wurden, lassen hoffen, dass man den biochemischen Mechanismus zur pharmakologischen Therapie von Erkrankungen ausnützen kann. Dabei könnten MCHR-Antagonisten möglicherweise potente Ziele bei der Forschung nach Therapievarianten der Adipositas sein.<sup>131</sup> Die nachgewiesenen Zusammenhänge zwischen einerseits MCH und andererseits Energiebalance, limbischem System, Schlaf<sup>132</sup> und anderen wichtigen physiologischen Automatismen sind Grundlage eines regen weltweiten Forschungsprozesses.

Neben dem Einsatz als Adipositastherapeutikum existiert als Ziel der wissenschaftlichen Bemühungen auch die Behandlung von Angstzuständen, Depressionen und Schlafstörungen.<sup>133,134</sup>

Valerie Audinot<sup>135</sup>, eine Pionierin der Erforschung von MCH-Rezeptor-Analoga und Antagonisten, prüfte 2001 in vitro rein peptidische 50 MCH-Analoga in Bezug auf ihre Affinität und Wirkung und schlussfolgerte, dass die Minimalvariante eines potenten MCH-Agonisten, die gerade noch zu einer Erhöhung von cAMP führt, ein Dodecapeptid (MCH 6-17) ist und dass die für die Wirkung essentiellen Schlüssel-Aminosäuren, Methionin auf Position 8 (Met8), Arginin auf Position 11 (Arg11) und Tyrosin auf Position 13 (Tyr13) sind. Substitution von 6 der 12 Aminosäuren durch synthetische Reste und gleichzeitiger Austausch der Disulfidbrücke mit einer Amidbindung produziert drei Verbindungen mit potenten antagonistischen Qualitäten.

Bednarek et al.<sup>136</sup>, der sein Augenmerk ebenso sehr früh auf die Erforschung des MCH gerichtet hat, postulierte mit seinen Ergebnissen, dass die Seitenketten Arg6 und Met8 moderat zur molekularen Erkennung von MCHR1 und 2 beitragen. Chiralität von Arg6 hat einen signifikanten Verlust von Bindungsstärke und agonistischer Wirkung zur Folge.

Erste erfolgreiche in vivo Studien wurden ein Jahr später veröffentlicht, als Takekawa et al.<sup>137</sup> mit dem nicht-peptidischen Biphenyl-Benzamid T-226296 - ein Enantiomer von N-[6-(dimethylamino)-methyl]-5,6,7,8-tetrahydro-[2-naphthalenyl]-4'-fluoro-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid - erstmals einen oral bioverfügbaren, selektiven MCHR1/2-Antagonisten entwickelten, wobei sich die Affinität für MCHR1 um ein Vielfaches höher erwies.<sup>137-139</sup> Bei den Versuchen injizierte man MCH in das intracerebroventriculäre System von Ratten, dies hatte eine Steigerung der Nahrungsaufnahme zur Folge und konnte bei einer Dosierung von 30 mg/kg T-226296

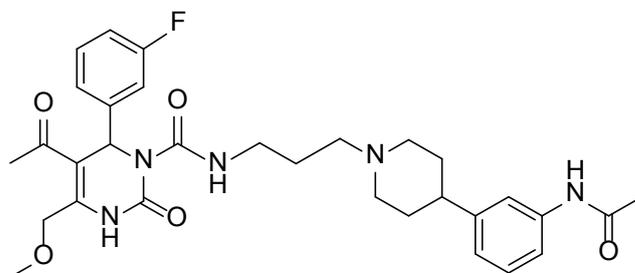
erfolgreich antagonisiert werden. Chemotypen dieser Verbindung dienen als Leitstruktur für viele Firmen.<sup>140</sup>

Ein Pharmakophormodell eines MCHR-Antagonisten von Clark et al.<sup>141</sup> aus den vorher beschriebenen Untersuchungen ergab folgende Charakteristiken: positiv geladener Stickstoff, H<sup>+</sup>-Akzeptor und die Anwesenheit von zwei hydrophoben Fragmenten.

Vier weitere Alternativen mit den Verbindungen GW856464<sup>142</sup>, AMG-076<sup>143</sup>, NGD-4715<sup>144</sup> und weiters BMS-830216<sup>145</sup> wurden klinischen Phase I-Untersuchungen zu-geführt.

### 1.2.2.1 MCHR1-Antagonist *rac*SNAP-7941

Beim Screenen von fokussierten Substanzbibliotheken gegen humanes MCHR1 nach Mobilisierung von intrazellulärem Ca<sup>2+</sup> war die Firma SyNAptic Pharmaceutical 2002 erfolgreich in der Synthese einer niedermolekularen<sup>131,146</sup> Dihydropyrimidin-Verbindung mit einer einzigartigen 4-Piperidinyl-acetanilid-Gruppe und vielversprechenden therapeutisch relevanten Effekten bei der Behandlung von Adipositas und patentierte diese unter dem Namen *rac*SNAP-7941 **1**.<sup>133</sup>



**1**

*rac*SNAP-7941, Methyl-3-(3-(4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-yl)propylcarbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester Hydrochlorid<sup>139</sup> ist ein nicht-peptidischer, selektiver, hoch-affiner kompetitiver Antagonist von MCH, dessen Selektivität für MCHR1 1000fach höher liegt als die für MCHR2.<sup>138</sup> Weiters eignet sich *rac*SNAP-7941 besonders gut als Tritium-Radioligand, der sich in den MCHR1-Arealen des ZNS (siehe 1.2) akkumuliert.

Um zu eruieren, ob der orexigene Effekt von *rac*SNAP-7941 durch MCHR1 mediiert wird, wurden Ratten mit der Substanz systemisch vorbehandelt, darauffolgend 3 nMol MCH i.c.v. in den 3. Ventrikel injiziert, mit der Konsequenz einer attenuierten MCH-regulierten Steigerung des Futtermittelsverbrauchs.

Um einen Langzeiteffekt zu testen, wurde in Experimenten an Ratten, denen Futter frei zur Verfügung stand, *rac*SNAP-7941 zweimal täglich für insgesamt sieben Tage appliziert und die Gewichtszunahme mit einer Placebo-Kontrollgruppe verglichen, mit dem Ergebnis, dass Ratten, die 10 mg/kg intraperitoneales *rac*SNAP-7941 erhielten, bis zu 26% weniger Gewicht zulegten, als Ratten, die der Kontrollgruppe zugeteilt waren. Damit ist belegt, dass chronische pharmakologisch medikamentöse Behandlung mit *rac*SNAP-7941 die Zunahme von Körpergewicht in jungen, noch im Wachstum befindlichen Ratten verringert.<sup>133</sup>

Borowsky et al.<sup>133</sup> beschrieben außerdem einen anxiolytischen und antidepressiven Effekt bei Nagetieren mithilfe diverser Versuchsanordnungen wie dem forced-swim-test und dem rat social-interaction test.

## 1.3 Energiehomöostase

### 1.3.1 Zentrale Regulation der Energiehomöostase

Anhand physiologischer, metabolischer und zentraler Regulationsmechanismen, die über verursachte Hunger- und Sättigungszustände Appetit und Nahrungsaufnahme regulieren, wird das Essverhalten und damit maßgeblich die Körpermasse gesteuert. Die Herstellung einer ausgleichenden Energiebalance, auf die das Regulationssystem Hypothalamus und Hirnstamm langfristig ausgerichtet ist, stellt einen äußerst komplexen Vorgang dar.

In Hinblick darauf fungiert der Hypothalamus als zentrale Koordinationsstelle der Energiehomöostase, die langfristig ein konstantes Körpergewicht gewährleistet.<sup>147,148</sup>

Die hypothalamische Involvierung in die Steuerung der Körpermasse erfolgt sowohl über eine kurzfristige als auch langfristige Regulation der Nahrungsaufnahme.

Kurzfristige Regulation über Hunger als Motivationszustand und als Dehnungssignal aus dem Gastrointestinaltrakt (GIT) resultiert in zielgerichteten Verhaltensweisen und letztendlich im konsumatorischen Verhalten aufgrund eines Energiedefizits.<sup>149</sup>

Präresorptive Sättigung (Sättigungsgefühl) tritt sehr rasch innerhalb von Minuten ein, noch bevor die aufgenommenen Nahrungsstoffe vom Körper resorbiert worden sind. Darin involviert ist die Stimulation des neuronalen sowie des humoralen Systems.

Dem gegenüber steht die postresorptive Sättigung (Satttheit), die den Zustand nach erfolgter Resorption und aufgefüllter Energiespeicher beschreibt, der bis zum Vorhandensein eines erneuten Hungergefühls bestehen bleibt.<sup>149,150</sup>

Langfristig regulierend wirkt dabei Leptin, zugehörig zu den humoralen Botenstoffen, da es einen sättigenden Effekt im Gehirn ausübt, gleichsam korreliert die Fettmasse positiv mit der Leptin-Plasmakonzentration.

Der Hypothalamus ist die Hauptschaltzentrale und das Befehlszentrum, mithilfe dessen das ZNS Hunger und Sättigung reguliert. Bereits vor über 60 Jahren wurde die hungerregulierende Funktion von lateralem Hypothalamus (LHA) und rostromedialem Hypothalamus (VMH) erkannt.<sup>151</sup>

Bernardis et al.<sup>152</sup> demonstrierten im Tierversuch die Veränderungen des Appetitverhaltens bei elektrophysiologischer Stimulation oder Zerstörung der verantwortlichen Regionen im ZNS.

Lokalisierte Läsionen der Region des VMH, die als Sättigungszentrum fungiert, resultieren in Hyperphagie, vermehrter Energiezufuhr und prädestinieren somit zu Adipositas, während elektrische Reizung gegenteilige Effekte aufzeigt.<sup>120,153</sup>

Destruktion des LHA, der das Hungerzentrum repräsentiert, erzielt eine entgegengesetzte anorektische Wirkung.<sup>154</sup>

Der Nucleus arcuatus (ARC) befindet sich an der Basis des 3. Ventrikels, wo die Blut-Hirn-Schranke am durchgängigsten ist, direkt oberhalb der Eminentia mediana, die in den Ventrikelwänden des Gehirns als zirkumventrikuläres Organ<sup>155</sup> vorliegt und als wichtigste Nahtstelle zwischen dem Nerven- und Hormonsystem fungiert. Ein reger Austausch verschiedener Hormone wie Leptin, Ghrelin, Pankreatisches Polypeptid (PP) oder Polypeptid YY (PYY) ist damit über die Blut-Hirn-Schranke gegeben.<sup>156</sup>

Den LHA erreichen unter anderem Afferenzen aus dem ARC, während die Efferenzen Richtung zerebralem Cortex und Nucleus tractus solitarii (NTS) ausgesandt werden. Wichtige humorale Botenstoffe, die in diesem Gebiet nachgewiesen wurden, sind MCH, Orexine<sup>157,158</sup> - Orexin A/B - und das Opioiddynorphin.

Der dorsomediale hypothalamische Nucleus (DMH) ist dem LHA und VMH zwischengeschaltet und projiziert efferent zum Nucleus paraventricularis (PVN). Hier spielen Insulin und Leptin eine wichtige Rolle.

Der PVN<sup>159</sup> empfängt Signale vom LHA, ARC, DMH und NTS und wird durch die Informationsträger Oxytocin, Vasopressin, Corticotropin-Releasing-Hormone (CRH) und Thyroid-Releasing-Hormon (TRH) gesteuert.<sup>149,160</sup>

Neben den oben genannten Arealen sind ebenso andere hypothalamische Neuronenpopulationen sowie extrahypothalamische Areale an der komplexen Regulation der Energiehomöostase involviert, die durch die Synthese verschiedener Neurotransmitter größtenteils bidirektional kommunizieren.

Gustatorische Informationen werden in den Nucleus tractus solitarii (NTS), der sich extrahypothalamisch im Hirnstamm befindet, weitergeleitet, welcher ein Kerngebiet der Medulla oblongata und eine Schaltstelle der Geschmacksbahn ist.<sup>149</sup>

### **1.3.2 Periphere Regulation über humorale Mediatoren**

Nach Produktion und Sekretion in Adipozyten gelangt Leptin als peripheres anorexigenes Hormon über die Blut-Hirn-Schranke ins Gehirn an seinen Wirkort, den ARC und wirkt dort als Indikator der Energiereserven, zentraler Appetitregulator und Schlüsselregulator des Fettmetabolismus. Nach Kopplung an den Leptin-Rezeptor Typ b fördert es die Sekretion von  $\alpha$ -Melanozyten-stimulierendem Hormon ( $\alpha$ -MSH)

aus Proopiomelanocortin (POMC)-Neuronen und wirkt inhibierend auf Neuropeptid Y-Neurone (NPY).

POMC ist ein Vorläufer-Polypeptid des  $\alpha$ -MSH und besteht aus 241 Aminosäuren. Das codierende Gen liegt auf Chromosomenabschnitt 2p23.3.

Der Leptinspiegel im Blut korreliert positiv mit der Menge der Fettreserven und dem Ausmaß der Stoffwechselaktivität der Adipozyten.<sup>161</sup>

Zwei distinkte Neuronenpopulationen verfügen über Leptin-Rezeptoren, beide lokalisiert im Hypothalamus, genauer im Nucleus paraventricularis (PVN) und ARC.

Zahlreich vorhandene Leptin-, Insulin- und Cholecystokin (CCK)-Rezeptoren im dorsomedialen Hypothalamus (DMH) weisen auf die Mitbeteiligung im Zuge der Sättigung hin.<sup>162-165</sup>

Ghrelin ist dagegen orexigen - wesentlich für die Initiation des Hungers<sup>166</sup> - und die Ausschüttung wird nach Fasten und Gewichtsabnahme gesteigert<sup>167</sup>, es sinkt nach Ingestion innerhalb einer Stunde um ca. 30% ab. Es bindet an den Growth-Hormone-Secretagogue Rezeptor (GHS-R) und bewirkt konsekutiv die Sekretion von NPY und Orexinen und die Senkung des Energieverbrauchs durch supprimierte Produktion von TRH. Die Folge ist ein Steigen der CRH- und Cortisol-Blutkonzentration, damit geht eine Verkürzung des Abstandes zwischen der Nahrungsaufnahme einher.<sup>165,168-170</sup>

Cholecystokin wird im Dünndarm im Bereich des Duodenums bei erhöhten Konzentrationen von Fett, Proteinen und Glucose ausgeschüttet. Der korrespondierende Rezeptor (CCK1-R) führt zu einer Aktivierung von Neuronen, die zum NTS ziehen und meldet dem ZNS das Vorhandensein von Nahrung. Es hat eine kurze sättigende Wirkung und steuert somit die präresorptive Sättigung.<sup>164,165</sup>

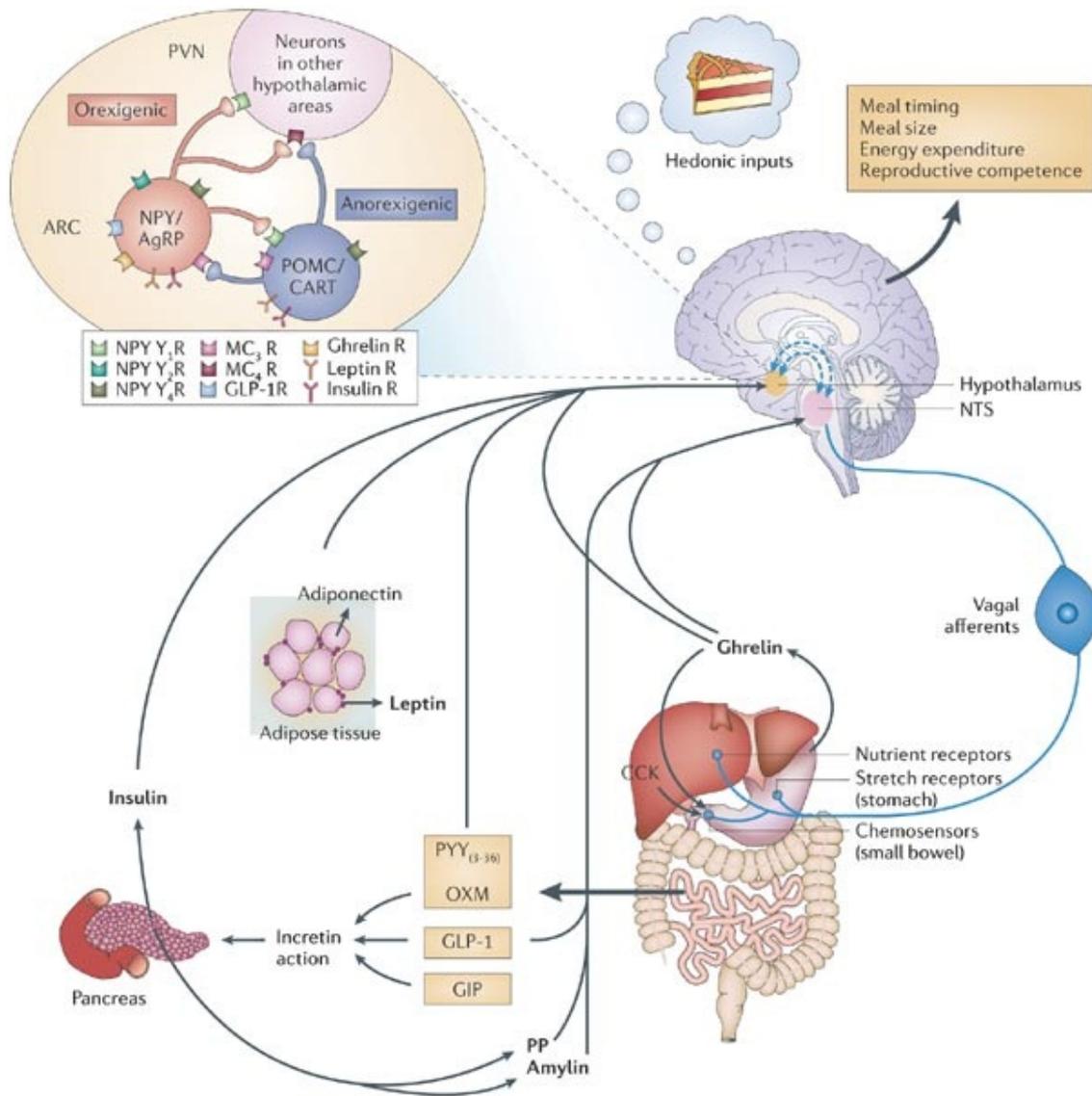
Pankreatisches Polypeptid (PP), eines der zahlreichen Produkte des Pankreas welches bei Anwesenheit von Fetten und Proteinen sezerniert wird, bindet im ARC an den Y4-Rezeptor, der autoregulatorisch die Ausschüttung von NCY inhibiert und damit das Gefühl der Sättigung herbeiführt.<sup>154,165</sup>

Eine bedeutende regulierende Rolle kommt dem Polypeptid YY (PYY) - ebenfalls ein im GIT sezerniertes Hormon - welches in der Schleimhaut des terminalen Ileums und im Colon bei Anwesenheit von Fettsäuren freigesetzt wird.<sup>171</sup> Es kann über Interaktion mit dem Y2-Rezeptor, der anorexigen wirkt und dem orexigenen Y5-Rezeptor wirken und führt hauptsächlich zu einer Sättigung<sup>172</sup>, die die Folge einer Autoinhibition von NPY-Neuronen ist.<sup>160,165,171,173,174</sup>

### 1.3.3 Neurotransmitter

$\alpha$ -Melanozyten-stimulierendes Hormon ( $\alpha$ -MSH) mit anorexigener Wirkung geht aus POMC im ARC nach Stimulation durch Leptin hervor. Der Melanocortin-4-Rezeptor (MC4-R) hat eine stimulierende Wirkung auf PVN und das sympathische System und eine hemmende Wirkung auf den LHA.<sup>175,176</sup>

Neuropeptid Y (NPY) hat wiederum orexigene Effekte und wird im ARC gebildet. Ghrelin ist Auslöser der Ausschüttung des Energieverbrauch-mindernden NPY, welches über eine Stimulation von LHA und Hemmung des PVN wirkt.<sup>175,177</sup>



**Abbildung 8.** Hypothalamische Regulation der Nahrungsaufnahme

Langzeitig wirksame Faktoren wie Leptin, Insulin gegenübergestellt kurzzeitig wirksamen wie das bei Hunger ausgeschüttete Ghrelin, Sättigungshormone (PYY), PP, Amylin und Oxyntomodulin (OXM). Glucagon-like Peptid 1 (GLP-1), glukoseabhängiges insulinotropes Peptid (GIP) und OXM sensibilisieren den Pankreas auf internalisierte Nahrungsstoffe. Weiters wird über afferente vagale Fasern der NTS von Dehnungsrezeptoren des GIT über den Inhaltszustand informiert.<sup>178</sup>

Kompetitiv antagonistisch zu  $\alpha$ -MSH am MC<sub>4</sub>-R<sup>179</sup> wirkt das ausnahmslos in NPY-Neuronen gebildete Agouti-related peptide (AgRP), das die Feinregulation des Hunger-Sättigungs-Systems steuert.<sup>165,177</sup>

Orexin A und B werden im LHA durch NPY induziert sezerniert. Die appetitanregenden Orexin-hältigen Neurone ziehen zu PVN, ARC, NTS und zum Cortex. Sie spielen nicht nur eine Rolle in der Regulation der Nahrungsaufnahme, sondern sind ebenfalls für Aufmerksamkeit und Wachheit verantwortlich und lassen deswegen auf einen Zusammenhang zwischen Narkolepsie und Adipositas schließen.<sup>180</sup>

## 1.4 Nuklearmedizin

### 1.4.1 Positronen-Emissions-Tomographie (PET)

Die Positronen-Emissions-Tomographie (PET) ist ein nicht-invasives Bildgebungsverfahren zur in vivo Diagnostik, mithilfe dessen funktionelle Informationen zu Stoffwechselaktivitäten, aber ebenso Rezeptorkonzentrationen und ihre Störungen dargestellt werden können. Ein Großteil der Erkrankungen wird durch Entgleisung von Stoffwechselsystemen verursacht, wofür sich nuklearmedizinische Untersuchungsmethoden besonders eignen. Hierbei werden radioaktiv markierte Moleküle intravenös (i.v.) appliziert und unterliegen pharmakokinetischen Veränderungen durch den Metabolismus.

PET ist eine (quantitative) Untersuchungsmethode, die Radioaktivität in vivo quantifizieren kann. Der Grund liegt in den spezifischen physikalischen Eigenschaften von Positronen-Emittern und der Verwendung von  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{N}$ ,  $^{15}\text{O}$  oder  $^{18}\text{F}$ , die Isotope von in organischen Molekülen natürlich vorkommenden Elementen sind und damit stoffwechselrelevante Funktionen haben.<sup>181,182</sup>

PET basiert auf der Emission von Positronen aus Kernen, die eine Überzahl von positiver Ladung innehaben. Diese emittierten Positronen besitzen eine geringe Reichweite von einigen mm, bis sie mit einem Elektron fusionieren und somit ein ultrakurzlebiges Positronium (Elektron-Positron-System) bilden. Bei der Vernichtung dieses Positroniums entstehen zwei Photonen,  $\gamma$ -Quanten, die mit je 511 keV Energiegehalt in nahezu diametrale Richtungen aufgrund der Impulserhaltung in einem Winkel von nahezu  $180^\circ$  ausgesandt werden. Aufgrund dieses Photonenpaars

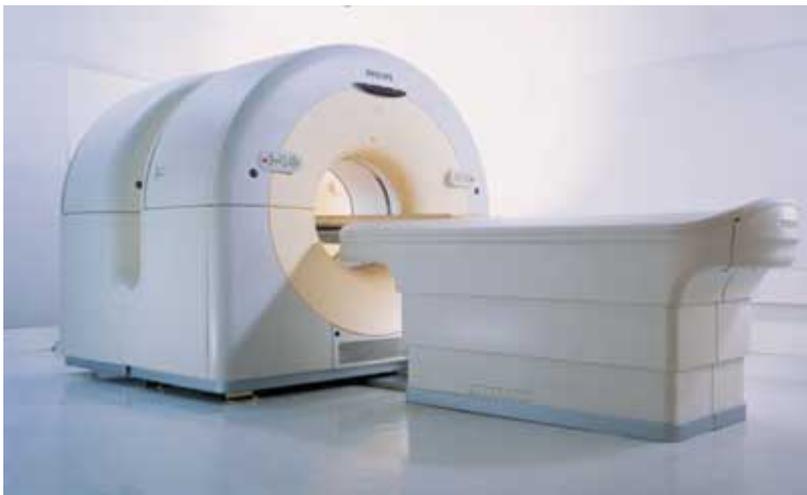
lässt sich mittels Detektoren, die rund um den Patienten aufgebaut sind, auf die Anzahl der Positronen und den Aufenthaltsort schließen. Die Detektoren bestehen aus Blöcken von kleinen szintillierenden Kristallen, die an einen oder mehrere Photomultiplier angeschlossen sind. Es können Photonenpaare registriert werden, wenn eines der Photonen einen Detektorkristall erreicht und innerhalb eines vorgegebenen Zeitfensters (z.B. 6 ns) der gegenüberliegende Detektor vom zweiten Photon getroffen wird. Aufgrund der Anordnung der Detektoren und den bekannten Vektoreigenschaften der Photonen kann auf die Herkunft des radioaktiv markierten Moleküls, das auf der gedachten Linie zwischen den zwei erregten Detektoren liegen muss, geschlossen werden - basierend auf der koinzidenten Detektion der sekundär entstandenen Vernichtungsstrahlung. Der Ort der Strahlungsquelle kann mittels computergestützter Software sichtbar gemacht werden.<sup>181</sup>

Während der PET-Messung, die wenige Sekunden bis mehrere Minuten dauern kann, wird ein Teil der Photonenpaare, die den Körper in alle Richtungen verlassen vom Detektorring erfasst. Die registrierten Photonenpaare, die eine projizierte Information der Aktivitätsverteilung repräsentieren, werden mittels Algorithmen ähnlich der Computer-Tomographie (CT) zu tomographischen Schnittbildern rekonstruiert.<sup>183</sup>

Der spezielle Vorteil der PET ist, dass sie nicht nur eine Verteilungsrate von gezählten empfangenen Signalen, wie bei der Szintigraphie oder der Single-Photon-Emissions-Computer-Tomographie (SPECT)<sup>184</sup>, darstellt, sondern dass sie die Verteilung der Aktivitätskonzentration in absoluten Messwerten auswertet ( $\text{kBq}/\text{cm}^3$ ). Der Hauptgrund dieses Vorteils ist, dass die Abschwächung der Radioaktivität innerhalb des Körpers der Untersuchungsperson genau korrigiert werden kann. Das wird durch eine zusätzliche Übertragungsberechnung erreicht, die sich aus einer Linienquelle bestehend aus Positronen-emittierenden  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  errechnet, die den Patienten

umgibt. Die 511 keV messende Strahlung der Linienquelle, die im Körper attenuiert wird, wird von gegenüberliegenden Detektoren gemessen. Mithilfe dieser Ergebnisse kann die Projektionsgleichung der PET bezüglich der absorbierten 511 keV Strahlung korrigiert werden.<sup>183</sup>

Die Entwicklung der PET hat die bildgebende Auflösung von ursprünglich 15 mm auf



**Abbildung 9.** PET-CT  
adaptiert nach <sup>1</sup>

4-5 mm verbessert, jedoch auf Kosten der statistischen Genauigkeit, da bei den kleineren Auflösungselementen natürlich weniger eintreffende Photonen gezählt werden. Um dem entgegenzuwirken, wurde der sogenannte 3D-Modus Anfang 1990 eingeführt. Bis zu dieser Zeit wurde nur im 2D-Modus gemessen, bei dem nur jene Photonenpaare aufgezeichnet wurden, die Detektoren eines Rings erreichten. Der 3D-Modus trennt die Detektorringe nicht, somit werden auch eintreffende Photonen in benachbarten Detektorringen registriert. Infolgedessen konnte die Sensitivität der Untersuchung verfünffacht werden, was wiederum dazu führte, dass die radioaktive Dosis, die der Patient infundiert bekommt, verringert werden konnte.<sup>185-187</sup>

Heutzutage werden standardisiert 80 % der PET-Untersuchungen in der onkologischen Diagnostik durchgeführt. In Kombination mit Daten einer Computertomographie<sup>181,188</sup> erlangt man zusätzlich eine genaue Lokalisation der PET-Ergebnisse

innerhalb des Körpers. PET bietet als neue diagnostische Messtechnik, sowie als komplexes interdisziplinäres Verfahren die Möglichkeit zur Diagnostik von Oesophaguskarzinomen, dem kolorektalen Karzinom, Tumoren der Mamma und Ovarien, Kopf-Hals-Tumoren, Lungentumoren, malignen Lymphomen, Melanomen und Hirntumoren. Gegenstand aktueller Untersuchungen ist eine Therapieanpassung bei positiven oder negativen PET-Verlaufskontrollen.<sup>189</sup> Weitere wichtige Einsatzgebiete sind die Kardiologie zur Infarkt Diagnostik, die die Vitalitätsdiagnostik des Herzmuskels impliziert und in der Neurologie bei der Diagnostik von Basalganglienerkrankungen, wie Morbus Parkinson, primären Demenzen, sowie der Unterscheidung von differenzierten und entdifferenzierten Tumoren und bei der prächirurgischen Fokuslokalisation in der Epilepsiediagnostik.<sup>190</sup>

#### 1.4.1.1 Radioaktiver Zerfall

Instabile Atomkerne zerfallen durch spontane Fission mit Emission von  $\alpha$ -Partikeln,  $\beta$ -Partikeln oder  $\gamma$ -Emission, um eine stabile Zustandsform zu erreichen. Die Stabilität eines Nuklids wird durch das strukturelle Arrangement und die Bindungsenergie der Nukleonen im Kern gewährleistet. Ein wichtiges Kriterium ist die Relation von Protonen zu Neutronen (N/Z) der stabilen Nuklide. Die Radionuklide zerfallen solange, bis sie die N/Z des nächstmöglichen stabilen Nuklids erreichen. Radioaktiver Zerfall, der mit einer Partikelemission einhergeht, führt zu einer Änderung der Protonenzahl des Nuklids, während bei Emission von  $\gamma$ -Strahlung die Anzahl der Nukleonen konstant bleibt.<sup>182,191,192</sup>

Spontane Fission (Kernspaltung) ist ein Vorgang, bei dem ein schwerer Kern in zwei Fragmente zerbricht, wobei das Verhältnis normalerweise 60:40 beträgt. Dieser

Prozess wird immer von der Emission von zwei oder drei Neutronen mit einer mittleren Energie von 1.5 MeV und einer Energiefreisetzung von 200 MeV in Form von thermischer Strahlung begleitet.

Fission in schweren Kernen erfolgt spontan oder nach Beschuss mit energiereichen Partikeln, wobei dessen Wahrscheinlichkeit gering ist und mit der Massenzahl der schweren Nuklei steigt.<sup>182,184</sup>

Der für die vorliegende Arbeit relevante  $\beta^-$ -Zerfall findet bei neutronenreichen Nuklei statt und geht mit Emission von  $\beta^-$ -Partikeln und Antineutrinos ( $\bar{\nu}$ ) einher. Antineutrinos sind kleine Entitäten fast ohne Masse und Ladung, deren Aufgabe in der Konservierung der Energie während des Zerfalls liegt. Beim  $\beta^-$ -Zerfall teilt sich ein Neutron in ein Proton und einen  $\beta^-$ -Partikel. Die Energie, mit der der  $\beta^-$ -Partikel emittiert wird, variiert von Null bis zur Zerfallsenergie, die der Energieunterschied zwischen Ursprungs- und Zerfallsprodukt ist.  $\bar{\nu}$  tragen die Differenz zwischen der Energie des  $\beta^-$ -Partikels und der Zerfallsenergie. Wenn das Zerfallsprodukt in einem erregten Zustand ist, tritt zusätzlich  $\gamma$ -Strahlung auf, deren Menge von der Erregungsenergie abhängt. Nach dem  $\beta^-$ -Zerfall trägt das Zerfallsprodukt immer eine um eins erhöhte Atomzahl, wobei die Massenzahl stets gleich bleibt.<sup>193,194</sup>

Protonenreiche Kerne zerfallen unter Emission von  $\beta^+$ -Partikeln und Neutrinos ( $\nu$ ), die konträr zu den Antineutrinos aufgebaut sind, wobei das Zerfallsprodukt eine um eins erhöhte Atomzahl als das Ursprungselement erhält. Die Reichweite von Positronen ist sehr kurz und nach Verbindung mit einem Elektron werden sie, unter Emission von zwei Photonen mit der Energie von 511 keV, ausgelöscht. Die Vernichtungsstrahlung - Annihilation - vernichtet das Paar. Bei Positronenzerfall teilt sich ein Proton in ein Neutron und emittiert ein  $\beta^+$ -Partikel und ein  $\nu$ .<sup>184</sup>

Da das  $\beta^+$ -Partikel eine Energie zwischen Null und der Zerfallsenergie trägt, wird die Restenergie durch das Neutrino übernommen. Es ist bekannt, dass ein Neutron äquivalent zu einem Proton plus einem Elektron ist. Daraus folgt, dass bei  $\beta^+$ -Zerfall das Energieäquivalent von zwei Elektronenmassen bei der Umwandlung von einem Proton zu einem Neutron geschaffen wird - dabei kann man errechnen, dass 1.02 MeV für diese Reaktion nötig ist. Aus diesen Vorgaben resultiert, dass Positronenemission nur bei einem Energieunterschied zwischen Ursprungs- und Zerfallsprodukt von größer als 1.02 MeV stattfindet.<sup>191,194</sup>

#### 1.4.1.2 PET-Radiopharmaka

Die medizinische Diagnostik und Therapie ist ein wichtiges Anwendungsgebiet von radioaktiven Stoffen. Die Nuklearmedizin beschäftigt sich mit dem intrakorporalen Einsatz eines radioaktiven Stoffes zur Detektion der aus dem Körper austretenden Strahlung zur Funktionsdiagnostik oder zur Akkumulation der strahlenden Substanz in gewissen Regionen zur Therapie.<sup>195</sup>

Radiopharmaka, oder Radio-Tracer, sind im Allgemeinen radioaktive Wirkstoffe, die zur Diagnose sowie Therapie von Krankheitsbildern zum Einsatz kommen. In der Nuklearmedizin werden 95% der Radiopharmaka für diagnostische Zwecke als Radiodiagnostika verwendet, während die restlichen als Therapiemaßnahme - Radiotherapeutika - eingesetzt werden. Radiopharmaka sind normalerweise charakterisiert durch minimale pharmakologische Konsequenzen, da nur nano- oder picomolare Mengen nötig sind, um als Tracer eingesetzt werden zu können. Im Falle eines therapeutischen Einsatzes kommt es als Nebenwirkung zu massiven Gewebsschädigungen durch die radioaktive Strahlung. Da sie in der Humanmedizin

eingesetzt werden, müssen sie steril sein und dürfen keinerlei pyrogene Potenz besitzen, weiters müssen sie allen Prüfungen auf Qualität und Reinheit entsprechen. Als Radiopharmaka können radioaktive Elemente, wie  $^{133}\text{Xe}$  eingesetzt werden, eine weitere Möglichkeit besteht in der Markierung von Trägersubstanzen, wie bei  $^{131}\text{I}$ -iodinierten Proteinen<sup>196</sup> und  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  markierten Substanzen.<sup>197</sup>

Ein Radiopharmakon bestehend aus zwei Komponenten, einem Radionuklid und einem pharmakologischen Wirkstoff, dem Träger, deren kombinierte Charakteristiken die Wirksamkeit des Radiopharmakons innehaben.

Bei der Herstellung wird zuerst ein Wirkstoff ausgewählt, der das gewünschte Zielorgan erreichen kann oder in der physiologischen Funktion des Organs involviert ist. In einem zweiten Schritt wird ein geeignetes Radionuklid an den Wirkstoff angedockt, um nach Applikation mithilfe von Detektoren die Verteilung im Körper zu bestimmen und dadurch Rückschlüsse auf die metabolische Funktion des Zielorgans schließen zu können. Der Wirkstoff sollte möglichst sicher und nicht toxisch für die Verwendung im menschlichen Körper sein, die Strahlung einfach detektierbar sein und die Strahlungs-dosis für den Patienten so minimal wie möglich gehalten werden.<sup>198</sup>

#### 1.4.1.2.1 Herstellung der PET-Radionuklide

Die wichtigsten PET-Nuklide -  $^{18}\text{F}$ ,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{N}$  und  $^{15}\text{O}$  - sind durch ihre kurze Halbwertszeit ( $t_{1/2}$ ) charakterisiert, die somit enorme Ansprüche bezüglich der Bereitstellung und der nachfolgenden messtechnischen Interpretation erfordern, jedoch im Gegenzug dazu aufgrund der kurzen Expositionsdauer mit einer extrem reduzierten Strahlenbelastung einhergehen.

### 1.4.1.2.2 Markierungsmethoden für PET-Radiopharmaka

#### 1.4.1.2.2.1 Markierung mit $^{11}\text{C}$

Es handelt sich um eine häufig eingesetzte Markierungsmethode, die jedoch von kurzer Halbwertszeit gekennzeichnet ist (20 Minuten) und wird unter anderem für die Umwandlung zu Methyljodid für Methylierungen verwendet. Für die vorliegende Arbeit ist diese Markierungsmethode von untergeordneter Bedeutung.<sup>199</sup>

#### 1.4.1.2.2.2 Markierung mit $^{18}\text{F}$

Das wichtigste Radiopharmakon für PET ist [ $^{18}\text{F}$ ]-2-Fluor-2'-desoxyglucose ([ $^{18}\text{F}$ ]FDG), welches seit 1979 gebräuchlich ist<sup>200</sup> und sich etabliert hat, da es in Untersuchungen des Gehirns, des Herzens und von Tumoren angewandt werden kann und zusätzlich eine nahezu optimale  $t_{1/2}$  von 109 Minuten (min) hat.<sup>201</sup>

Die Bedeutsamkeit bei cerebralen Untersuchungen ergibt sich dadurch, dass das Gehirn 90% seiner Energie aus Oxidierung von Glucose schöpft und dass viele normale und pathologische Gehirnfunktionen mit Veränderungen des Glucoseverbrauchs vergesellschaftet sind. Die [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-Aufnahme in Neuronen, die mit PET gemessen wird, spiegelt den Glucoseverbrauch wider, wobei eine verminderte Aufnahme auf eine cerebrale Unterfunktion wie bei Epilepsie, Infarkt und Demenz hinweist und ein erhöhter Verbrauch auf gesteigerte Aktivität bedingt durch externe oder mentale Stimulation oder eine Überexpression von Glucosetransportproteinen bei zahlreichen Tumoren. Man kann so zum Beispiel eine Elevation des Glucoseverbrauchs im Motorcortex bei Fingerbewegung nachweisen.<sup>182</sup>

In der Kardiologie wird [<sup>18</sup>F]FDG zur Detektion von Infarktarealen verwendet, da mit der Substanz einem Infarkt benachbarte Areale bezüglich ihrer Lebensfähigkeit beurteilt werden können.<sup>202</sup> Dies ist mit anderen Radiopharmaka nicht möglich, stellt aber eine sehr wichtige Information bezüglich der prächirurgischen Evaluation und Prognose von Bypass-Operationen und perkutaner transluminaler Coronarangioplastie (PTCA) dar, mit denen eine reduzierte Perfusion in schlecht durchbluteten Myokardarealen wiederhergestellt oder zumindest verbessert werden kann.<sup>183</sup>

Kurz nach der Entdeckung und Einführung von [<sup>18</sup>F]FDG wurde von einer erhöhten Speicherung der Substanz in malignem Gewebe, besonders in schlecht-differenzierten und somit prognostisch ungünstigen Hirntumoren berichtet.<sup>203</sup> Es dauerte jedoch noch mehr als zehn Jahre, bevor [<sup>18</sup>F]FDG als Tumor- und Metastasendiagnostikum und als hauptsächlich verwendetes Radiopharmakon zum Einsatz kam. Mittels [<sup>18</sup>F]FDG durchgeführte PET-Untersuchungen haben eine vielfach höhere Sensitivität als reine CT- oder MRT-Untersuchungen. Folglich kam es zu einem Ausbau der Infrastruktur und zu einer erhöhten Anzahl an verfügbaren PET-Scannern weltweit.<sup>201</sup>

Die Markierungsmethoden bedürfen einer Erweiterung, dabei aussichtsreich sind Fluoralkylierungsmethoden, wobei im Zuge von nukleophilen Substitutionsreaktionen fluorierte Alkylierungsagenzien, wie Fluorethyltosylat, Fluorpropionsäureester oder Fluorbenzyl derivative hergestellt werden, um zu den jeweiligen Präparaten umgesetzt zu werden.<sup>182</sup>

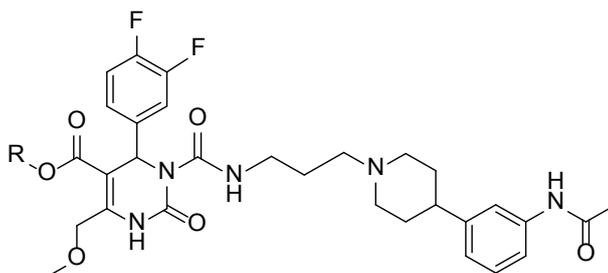


## 2 METHODEN UND UNTERSUCHUNGSVERLAUF

### 2.1 Zielsetzung

Das Ziel der vorliegenden Diplomarbeit bestand darin, auf Basis des hochaffinen und selektiven MCH1-Rezeptor-Liganden racSNAP-7941 **1** Vorstufen zur radioaktiven Markierung herzustellen. Es galt, anhand von verschiedenen Synthesewegen den bestmöglichen Zugang, ausgehend von Hydroxyethylester HE@SNAP **4**, ein dem racSNAP-7941 Methyl-3-(3-(4-(3-acetaminophenyl)piperidin-1-yl)propylcarbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester Hydrochlorid verwandtes Derivat, zu erzielen, um so über die Tosyloxyethyl-Vorstufe TOE@SNAP **2** in weiterer Folge zum Fluorethylester FE@SNAP **5** zu gelangen, der als Referenzsubstanz für die Radiomarkierung mit F[18] dient (vgl. Literatur<sup>204</sup>).

- 1: R=CH<sub>3</sub>
- 2: R=(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OTs
- 3: R=(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OAllyl
- 4: R=(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OH
- 5: R=(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>F

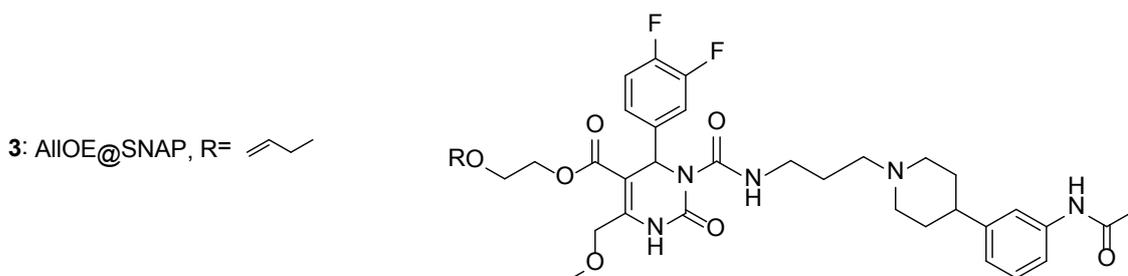


Um das Edukt effizient zugänglich zu machen, sollte dabei ein SNAP-Derivat mittels eines allylgeschützten Hydroxyethylesters Alloe-SNAP **3** generiert werden, bei dem nachfolgend eine direkte Abspaltung des Allyl-Restes zum Alkohol erfolgen sollte.

Die geschaffenen Derivate sollten als Ausgangsverbindungen für PET-Tracer zur  $^{11}\text{C}$ -Markierung, respektive  $^{18}\text{F}$ -Fluorierung in einer Forschungsreihe der Universitätsklinik für Nuklearmedizin, AKH-Wien, für diagnostische Zwecke genutzt werden, da sie einen vielversprechenden Ansatz für zukünftige Untersuchungen auf diesem Gebiet bieten.

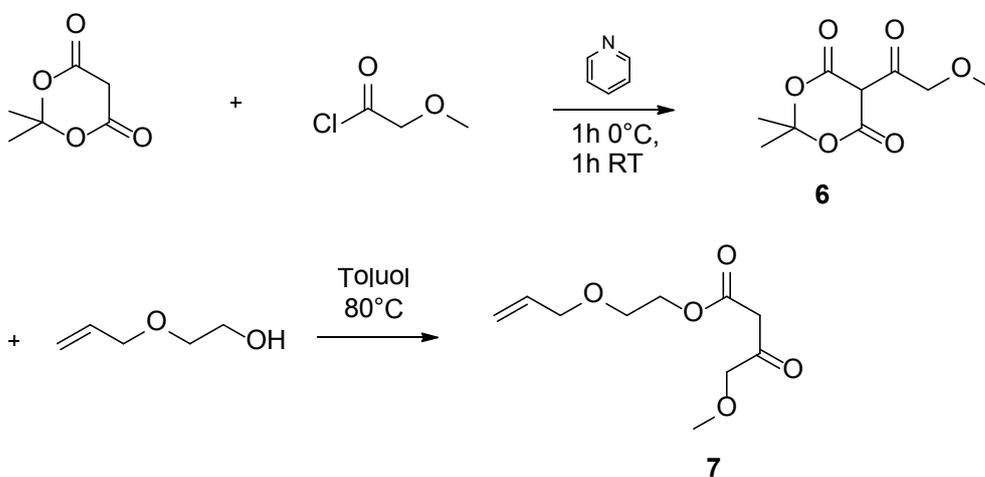
## 2.2 Synthesen

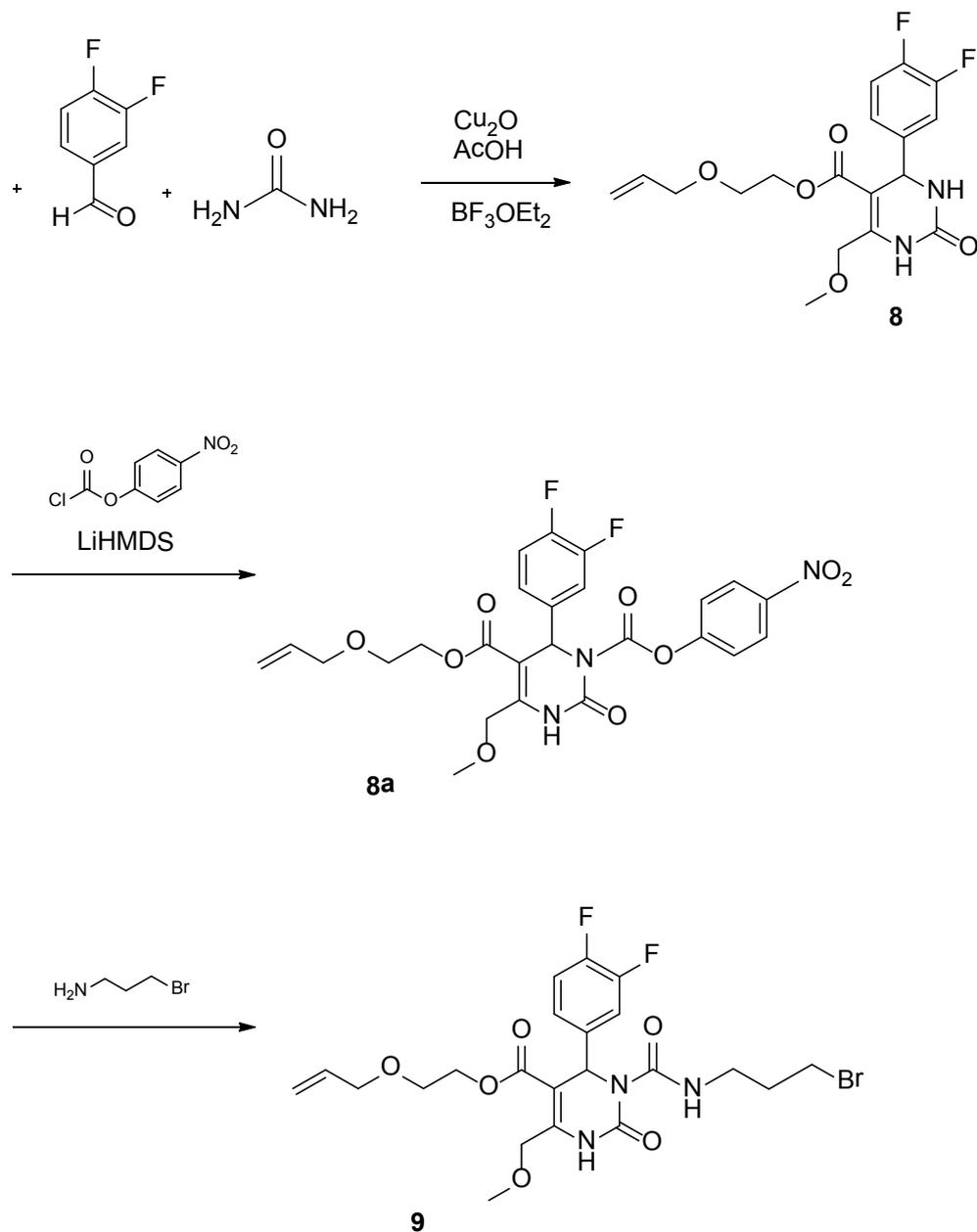
### 2.2.1 Darstellung des Allyloxyethylsters AlIOE-SNAP (3)



Als Grundlage für die Synthese des Grundkörpers wurden als Vorlage für die ersten Schritte die Arbeitsvorschrift von Li et al.,<sup>205</sup> für alle weiteren, die Arbeit von Schönberger<sup>206</sup> herangezogen.

#### 2.2.1.1 Synthese von 2-Allyloxyethyl-3-(3-brompropyl-carbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester (9)





Schema 1

Mittels der Vorstufe 6 erfolgte unter inerten Bedingungen durch Acetylierung der Meldrumsäure mit Methoxyacetylchlorid in Dichlormethan unter Zusatz von Pyridin bei  $0^\circ\text{C}$  die Herstellung des  $\beta$ -Ketoesters mit der gewünschten Schutzgruppe. Aufgrund der exothermen Reaktion wurde Pyridin in die auf  $-20^\circ\text{C}$  abgekühlte entstandene Lösung tropfenweise zugegeben, um ein besseres Ergebnis zu erzielen. Danach wurde bei  $0^\circ\text{C}$  für eine weitere Stunde gerührt, das Lösungsmittel entfernt

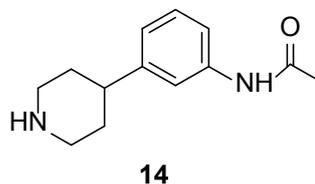
und nach Erreichen der Raumtemperatur noch eine Stunde gerührt. Zur anschließenden Aufarbeitung wurde das Reaktionsgemisch mit 1N Salzsäure und Wasser ausgeschüttelt und die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet.<sup>205</sup>

Nach dem Abfiltrieren und Einengen des Lösungsmittels am Rotavapor wurde der Rückstand **6** aus dem ersten Schritt ohne weitere Aufreinigung in Toluol aufgenommen. Nach der Zugabe von Allyloxyethanol wurde das Reaktionsgemisch auf 80°C erhitzt und unter Rückfluss 24 Stunden lang gerührt. Nach Abrotieren des Lösungsmittels und anschließend durchgeführter Vakuumdestillation konnte die Reinsubstanz gewonnen werden. Der Allyloxyester erreichte seinen Siedepunkt bei einer Temperatur von 60°C, dabei destillierte der überschüssige Alkohol schon bei 40°C.<sup>205</sup>

Nach Erhitzen in Toluol erfolgte die Zugabe von Difluorbenzaldehyd und Harnstoff zum Allyloxyethylester **7**, diese wurden in Tetrahydrofuran gelöst und weiters portionsweise mit Kupferoxid und Essigsäure versetzt. Anschließend wurde Bortrifluoriddiethyletherat zugetropft, dadurch entstand eine klare Reaktionsmischung, die unter Rückfluss für 12 Stunden gerührt wurde. Um die Reaktion zu beenden, wurde die auf Raumtemperatur abgekühlte Mischung in eine Eis/Wassermischung gegossen. Es erfolgte die Filtration mit Celite, das Nachwaschen des Überflusses mit Dichlormethan und die Trennung der grünen organischen Phase von der blauen wässrigen Phase, welche jeweils dreimal mittels Dichlormethan extrahiert wurde. Über Natriumsulfat wurden die gesammelten organischen Phasen getrocknet, das Lösungsmittel abfiltriert und zur Trockene gebracht. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt. (EtOAc/PE 3:1)<sup>207</sup>

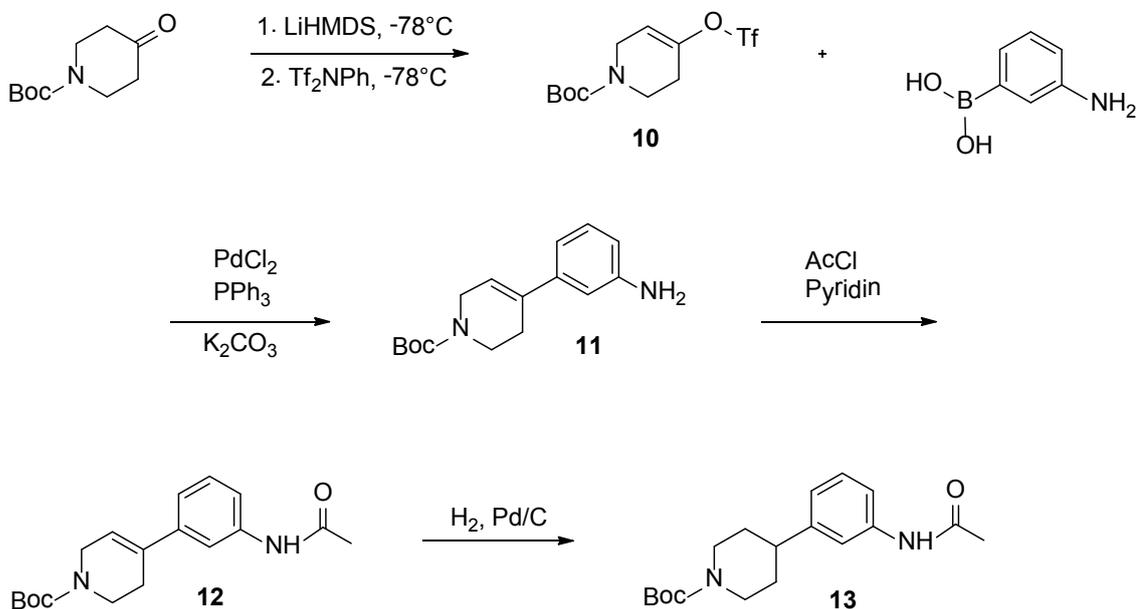
Zu einer Lösung des Dihydropyrimidinon-Grundkörpers **8** und Chlorameisensäure-4-nitrophenylester in Tetrahydrofuran wurde auf  $-78^{\circ}\text{C}$  abgekühlt und langsam Lithiumbis(trimethylsilyl)amid zugetropft. Durch Zugabe von Wasser wurde nach zehn Minuten die Reaktion gequencht und danach die Mischung auf  $0^{\circ}\text{C}$  erwärmt. Kaliumcarbonat sowie 3-Bromopropylamin Hydrobromid wurden der Reaktionslösung zugesetzt und über Nacht auf Raumtemperatur erwärmt. Die leuchtend gelbe Suspension wurde zweimal mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen und nachfolgend die Phasen getrennt, wobei die wässrige Phase mit Diethylether extrahiert wurde. Anschließend wurden die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und weiters eine Reinigung mittels Säulenchromatographie ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  9:1) durchgeführt.<sup>205,207</sup>

### 2.2.1.2 Darstellung von N-(3-(Piperidin-4-yl)phenyl)acetamid (14)



Die Darstellung von Verbindung **14**, die unverändert in zahlreichen SNAP-Derivaten Verwendung findet, sollte durch Modifikation der literaturbekannten Vorschrift<sup>206</sup> wesentlich optimiert werden.

#### 2.2.1.2.1 Synthese von *t*-Butyl-4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-carbonsäureester (13)



Schema 2

In Anlehnung an Schönberger<sup>206</sup> wurden die folgenden Syntheseschritte durchgeführt.

Zuerst wurde das Enoltriflat **10** unter inerten Bedingungen hergestellt, ausgehend von 4-*N*-Boc-Piperidinon in Tetrahydrofuran, durch Umsetzung bei  $-78^{\circ}\text{C}$ , mit Lithiumhexamethyldisilazid versetzt und weiters wurde nach 30 Minuten eine Lösung von *N*-Phenylbis(trifluormethansulfonimid) in Tetrahydrofuran zugetropft. Dies sollte langsam erfolgen, um einen rasanten Temperaturanstieg zu verhindern. Nachdem für weitere 15 Minuten bei  $-78^{\circ}\text{C}$  gerührt wurde, wurde über Nacht auf Raumtemperatur erwärmt.

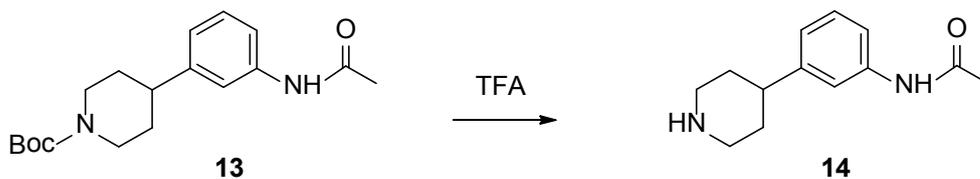
Ohne weitere Reinigung wurde das erhaltene Reaktionsgemisch direkt im nächsten Reaktionsschritt eingesetzt und mit Wasser und Tetrahydrofuran verdünnt. Anschließend wurden weiterhin unter inerten Arbeitsbedingungen Kaliumcarbonat, 3-Aminophenylboronsäure Hemisulfat, Triphenylphosphin und Palladium(II)chlorid hinzugefügt, die Mischung entgast und die Suspension über Nacht unter Reflux erhitzt, welche sich dabei braun-rot verfärbte. Nach dem Abkühlen wurde sie in Ethylacetat aufgenommen, die Phasen getrennt, wobei die wässrige Phase zweimal mit Ethylacetat extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet wurden. Danach wurde das Lösungsmittel abrotiert und das Produkt **11** säulenchromatographisch (EtOAc/PE 3:1) gereinigt und konnte im folgenden Schritt problemlos zum Acetamid **12** überführt werden.

Für die Acetylierung wurde das Amin **11** in Dichlormethan gelöst und mit Pyridin versetzt, auf  $0^{\circ}\text{C}$  gekühlt und Acetylchlorid zugesetzt und nach 20 Minuten auf Raumtemperatur erwärmt. Die Reaktion wurde nach 90 Minuten Rühren durch Zugabe von gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung beendet, das Gemisch in Ethylacetat aufgenommen, jeweils zweimal mit gesättigter Ammoniumchlorid- und Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Danach trennte man die Phasen und

extrahierte die wässrigen Phasen mit Ethylacetat, wobei die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt wurde. Um störende Nebenprodukte abzutrennen, war für die weitere Umsetzung eine schnelle Säulenfiltration (EtOAc/PE 1:1) ausreichend.

Das gelbe, ölige Gemisch **12**, in Methanol gelöst, wurde nach Zugabe von Palladium/Aktivkohle-Katalysator (10 Gew.-% Pd) einer 60 stündigen Hydrierung unter Normaldruck unterworfen, wobei der butyloxycarbonylgeschützte Baustein **13** erhalten wurde.

#### 2.2.1.2.2 N-(3-(Piperidin-4-yl)phenyl)acetamid (**14**)

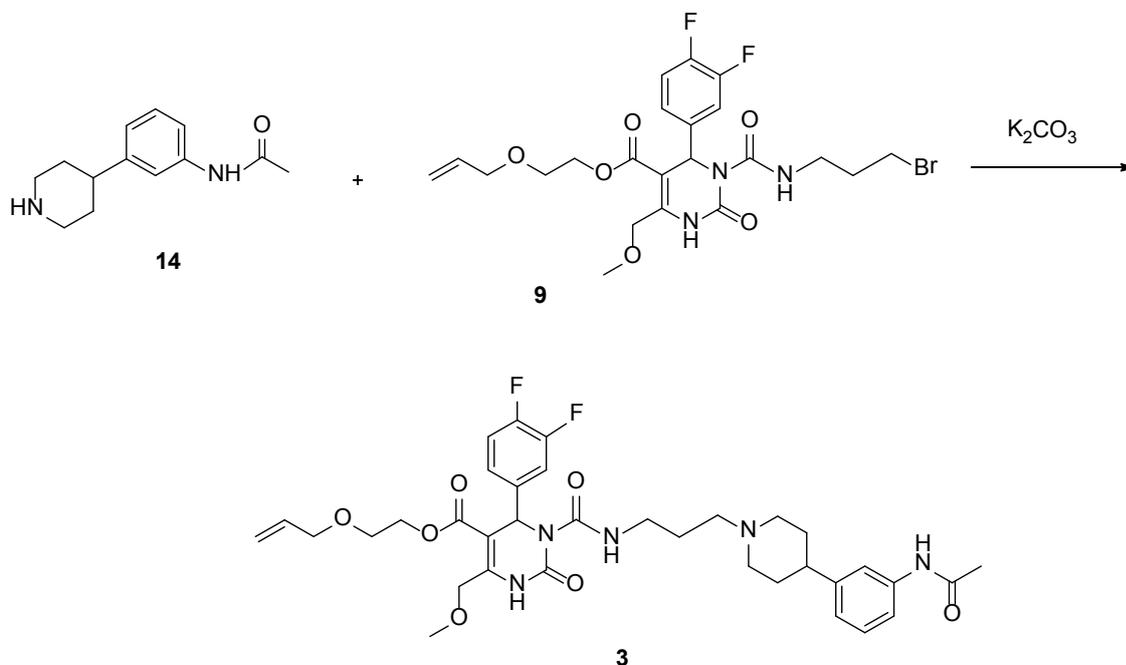


Schema 3

Zur Herstellung des 4-substituierten Piperidins **14** musste die Abspaltung der *tert*-Boc-Schutzgruppe in einer 16-stündigen Reaktion mit Trifluoressigsäure erfolgen. (Schema 3)

### 2.2.1.3 Zusammenführung der Fragmente 9 und 14 zu ALLOE-SNAP: 2-Allyloxyethyl-3-(3-(4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-yl)- propylcarbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2- oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester

Zur Synthese von ALLOE-SNAP 3 wurde das 4-substituierte Piperidin-Fragment 14 mit der brompropylierten Verbindung 9 in Anlehnung an Schönberger<sup>206</sup> umgesetzt. (Schema 4)



Schema 4

Nach 16 stündigem Rühren bei Raumtemperatur wurde die Lösung mit Toluol versetzt und danach das Lösungsmittel im Vakuum vollständig entfernt.

Der Rückstand 14 wurde in Azetonitril aufgenommen, mit Propylbromid 9 und Kaliumcarbonat versetzt und unter Inertgasatmosphäre für 37 Stunden bei 35°C gerührt. Nach Filtration der gelben Suspension, wurde der Filtrerrückstand gründlich

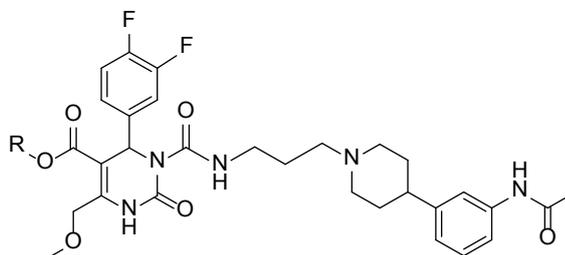
mit Ethylacetat nachgewaschen und das Filtrat im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der ölige Rückstand wurde wieder in Ethylacetat aufgenommen, zweimal mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen und die wässrigen Phasen mit Ethylacetat extrahiert. Nach Vereinigen der organischen Phasen wurde über Natriumsulfat getrocknet, danach abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotavapor abgedampft. Anschließend erfolgte säulenchromatographische Reinigung ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  9:1) und das Rohprodukt als gelbbraunes Öl wurde erhalten.

## 2.2.2 Darstellung der Ethylderivate HE@SNAP und TOE@SNAP

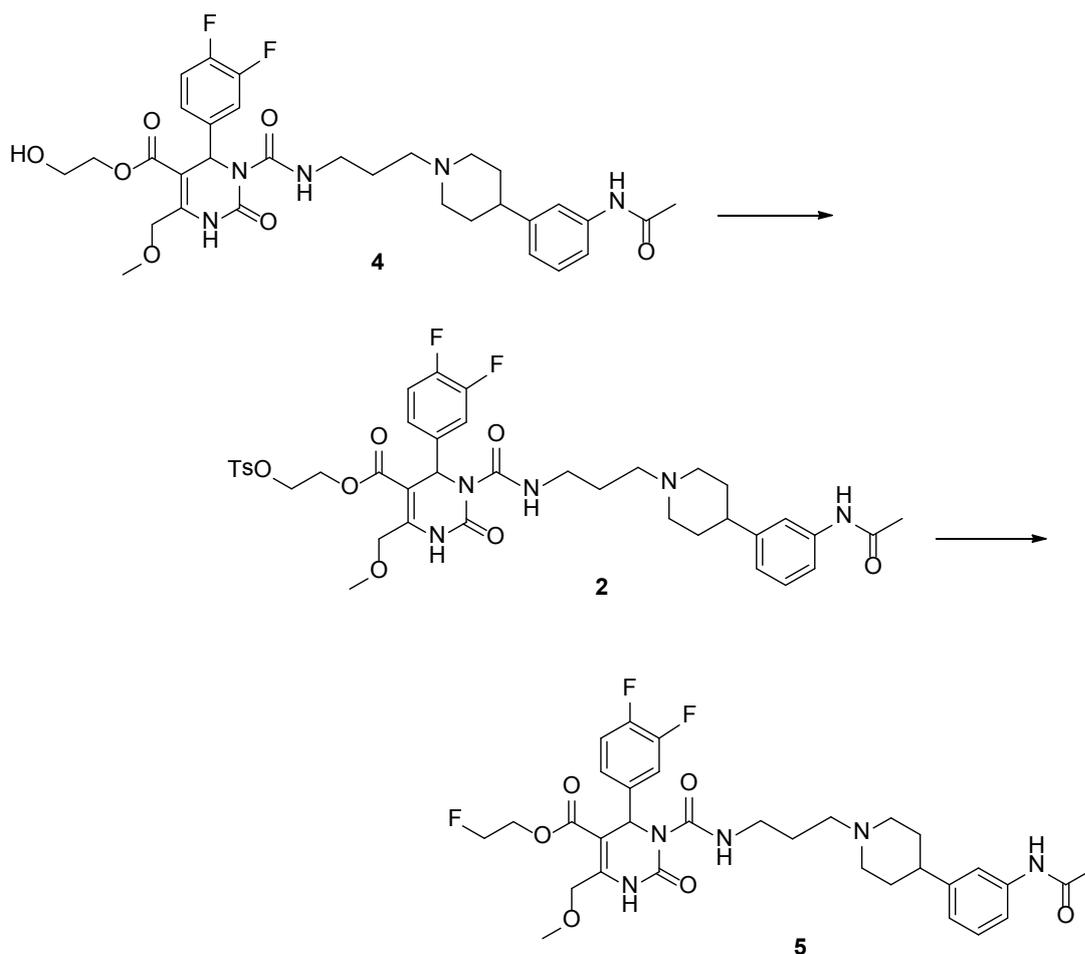
4: Hydroxyethylderivat HE@SNAP, R= HO-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-

2: Tosyloxyethylderivat TOE@SNAP, R= TsO-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-

5: Fluorethylderivat FE@SNAP, R= F-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-



Ausgehend vom allylgeschützten Hydroxyethylester ALLOE-SNAP **3** (Schema 4) konnte durch direkte Abspaltung des Allyl-Restes das HE@SNAP **4** generiert werden und in weiterer Folge gelangte man über die Tosyloxyethyl-Vorstufe **2** zum Fluorethylester, der als Referenzsubstanz hergestellt wurde. (vgl. <sup>204,208</sup>) (Schema 5)



Schema 5

### 2.2.2.1 Darstellung des Hydroxyethylesters HE@SNAP (4) aus dem Allyloxyethylester ALLOE-SNAP (3)

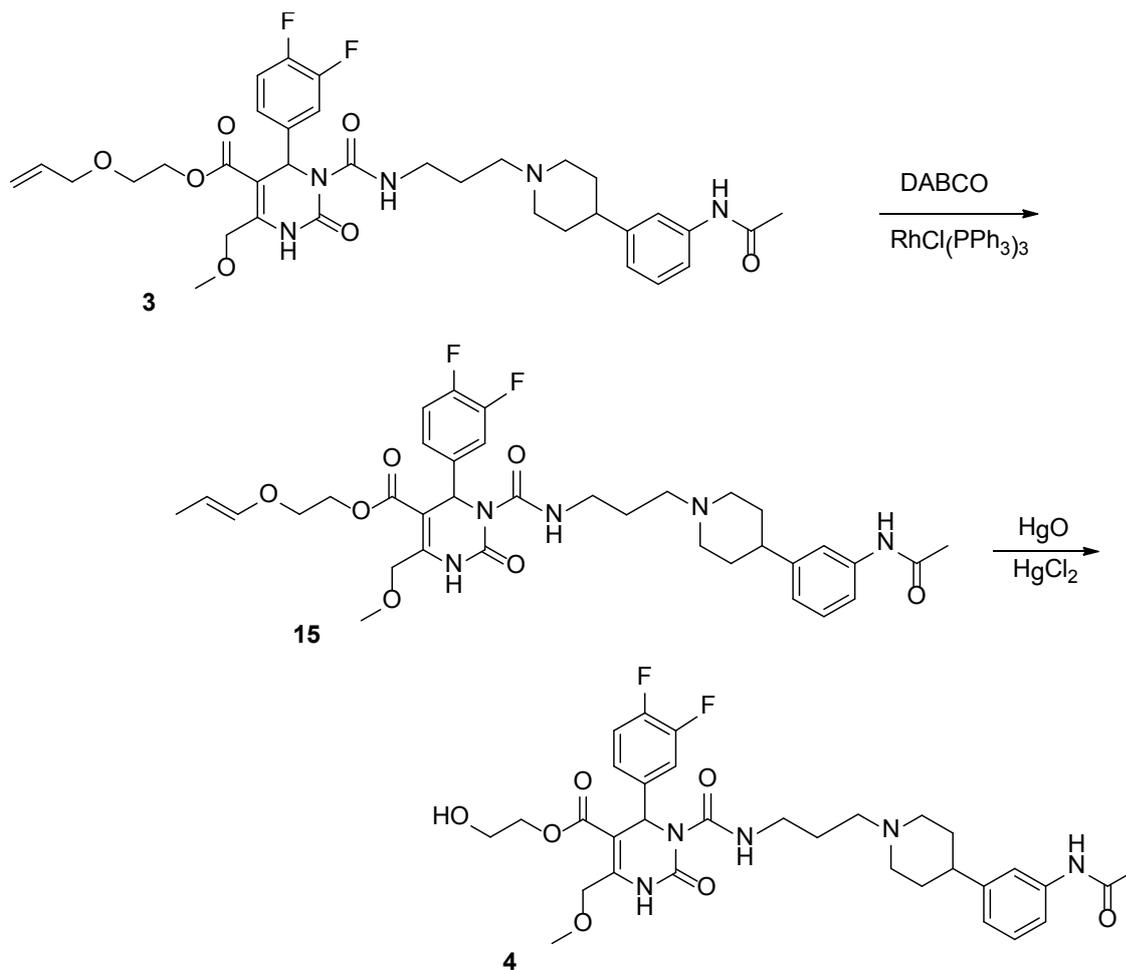
**2-Hydroxyethyl-3-(3-(4-(3-acetamido-phenyl)-piperidin-1-yl)propyl-carbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester**

Um die Herstellung des Tosyloxyethylderivates TOE@SNAP (2) bewerkstelligen zu können, musste zunächst ein Zugang zum Hydroxyethylderivat HE@SNAP (4) eröffnet werden.

Vorangegangene Versuche die Verbindung HE@SNAP 4 in der Form des ungeschützten Alkohols zu synthetisieren, konnten nicht realisiert werden, deshalb wurde mit der Synthese des allylgeschützten Derivats 3 ein Versuch zur Effizienzsteigerung unternommen.<sup>204</sup>

Die nachfolgende Abspaltung der Schutzgruppe sollte zu HE@SNAP 4 führen, wobei die Methode von Smith et al.<sup>209</sup> und Gigg und Warren<sup>210</sup> herangezogen wurde, bei der zuerst mithilfe eines Wilkinson-Katalysators eine Isomerisierung der Doppelbindung erfolgte. Das resultierende Vinyl-SNAP 15, das unmittelbar einer anschließenden Quecksilberchlorid/Quecksilberoxid-vermittelten Vinyletherspaltung unterworfen wurde, führte zum gewünschten HE@SNAP 4. (Schema 6)

Durch Zugabe eines Wilkinson-Katalysators erfolgte die Isomerisierung und Umlagerung der Doppelbindung in Richtung des stabileren Enolethers, die dabei entstandene Salzsäure wurde durch das zugefügte gelbe Quecksilberoxid abgefangen.

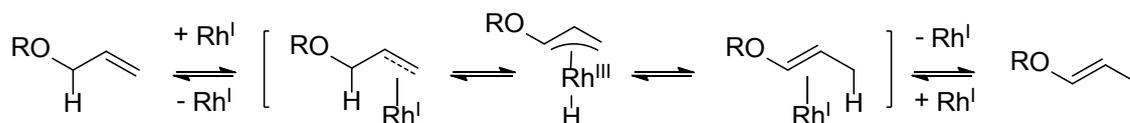


Schema 6

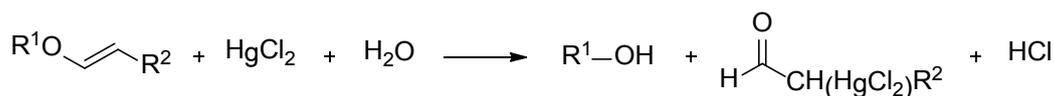
Bei der Umsetzung zum Zwischenprodukt **15** nach Smith et al.<sup>209</sup> wurde **3** in 90% Ethanol gelöst, Diazabicyclooctan zugegeben und auf 80°C erhitzt. Nach Erreichen der Temperatur wurde Chlorotris(triphenylphosphin)rhodium zugegeben und danach für 15 Minuten gerührt. Nachdem auf Raumtemperatur abgekühlt wurde, quenchte man mit Puffer pH 7.0. Die wässrige Phase wurde mit Diethylether nach erfolgter Phasentrennung extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet, das Trocknungsmittel filtriert und anschließend am Rotavapor vom Lösungsmittel befreit.<sup>209</sup> Das entstandene Produkt wurde nach der Vorschrift<sup>210</sup> ohne weitere Aufreinigung für den nächsten Schritt eingesetzt. Der Rückstand wurde in einem Aceton/Wassergemisch (10:1) aufgenommen und mit

gelbem Quecksilberoxid versetzt. Danach tropfte man über 3 Minuten eine Lösung von Quecksilberchlorid in Aceton/Wasser hinzu und man prüfte die Produktumsetzung mittels DC-Kontrolle. Nach Filtration über Celite wurde Quecksilberoxid entfernt und Aceton im Vakuum abgedampft. Säulenchromatographisch wurde der Rückstand gereinigt, wobei ein Teil des Eduktes **15** für eine nochmalige Umsetzung rückgewonnen werden konnte, die anhand der NMR-spektroskopischen Analytik eindeutig als Isomer des ursprünglichen Allylethers **3** nachgewiesen werden konnte.

Schema 7 skizziert den möglichen rhodium(I)katalysierten Mechanismus der Isomerisierung und Schema 8 die quecksilbervermittelte Etherspaltung:



Schema 7<sup>211</sup>



Schema 8<sup>210</sup>

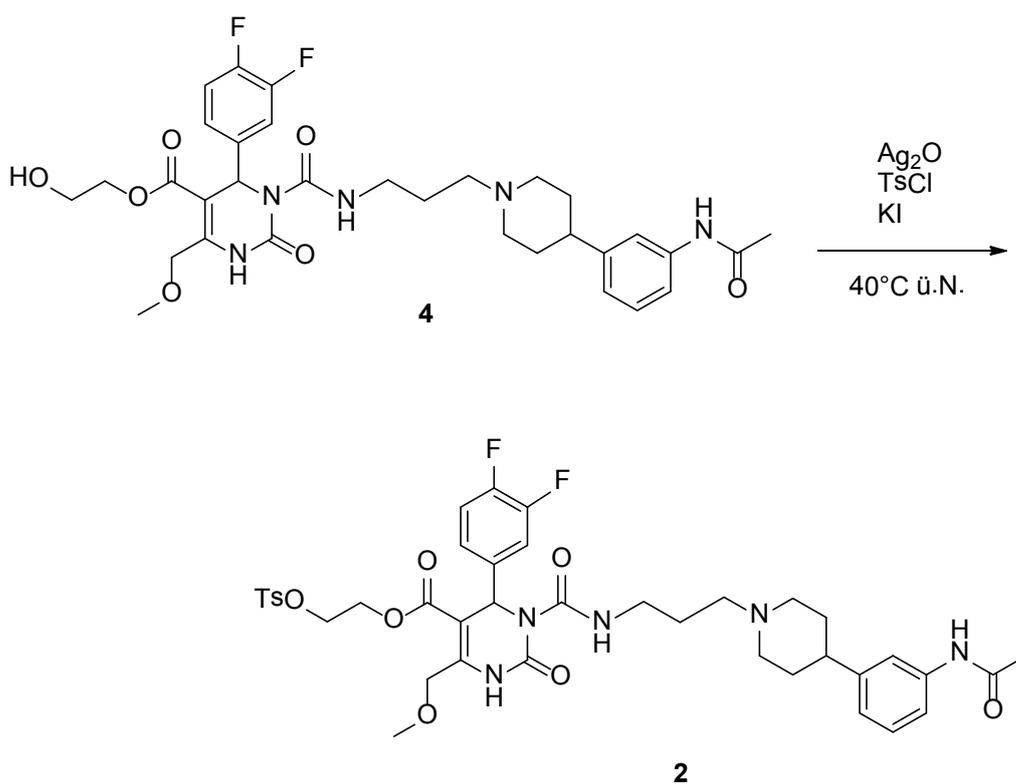
Der Beweis für das Vorliegen des entstandenen Vinylethers wurde durch das Fehlen von dem für eine Allylgruppe charakteristische Multipllett im <sup>1</sup>H-Spektrum bei 5.85 ppm und die Signalverschiebung des <sup>13</sup>C-Spektrums erbracht.



Das allyloxyethylgeschützte SNAP-Derivat **3** stellte einen effizienten Syntheseweg zum Hydroxyethylester HE@SNAP **4** dar.

## 2.2.2.2 Darstellung des Tosyloxyethylsters TOE@SNAP (2)

2-(Tosyloxy)ethyl-3-(3-(4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-yl)propyl-carbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester



Schema 9

In Anlehnung zu Bouzide et al.<sup>212</sup> konnte mit Tosylchlorid und Silberoxid die Umsetzung erreicht werden. Dazu war frisch hergestelltes Silberoxid nach Tanabe et al.<sup>213</sup> nötig. Eine Lösung von Natriumhydroxid in Wasser wurde auf ca. 90°C erhitzt und zu einer ebenfalls 90°C heißen Lösung Silbernitrat in Wasser zugefügt. Danach wurde rasch die resultierende heiße Suspension filtriert, der Filterkuchen mit heißem Wasser, sowie 95-prozentigem Ethanol und absolutem Ethanol gewaschen und das entstandene Silberoxid für zwei Tage an der Pumpe getrocknet.

Zu einer Lösung des Alkohols **4** in Dichlormethan wurde das frisch hergestellte Silberoxid, Tosylchlorid und Kaliumiodid unter Rühren zugegeben. Die Mischung wurde bei 40°C gerührt, bis die Reaktion beendet war, dies wurde mittels DC-Kontrolle überprüft. Nach der Filtration und dem Abrotieren des Lösungsmittels wurde der Rückstand mittels Säulenchromatographie (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1) gereinigt.

Das Produkt konnte ohne weiteres Aufarbeiten nach der chromatographischen Reinigung als hellbrauner amorpher Feststoff erhalten werden.

## 3 EXPERIMENTELLER TEIL

### 3.1 Gerätedaten

Spektren:

$^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren wurden auf einem Bruker Avance DPX-200 Spektrometer bei 27°C (200.13 MHz für  $^1\text{H}$ , 50.32 MHz für  $^{13}\text{C}$ ), einem Varian UnityPlus 300 Spektrometer bei 28°C (299.95 MHz für  $^1\text{H}$ , 75.43 MHz für  $^{13}\text{C}$ ) oder einem Bruker Avance 500 Spektrometer bei 20°C (500.13 MHz für  $^1\text{H}$ , 125.77 MHz für  $^{13}\text{C}$ , 470.59 MHz für  $^{19}\text{F}$ ) vermessen. Die Lösungsmittelsignale fungierten als interner Standard, dabei wurden die Werte der chemischen Verschiebungen auf TMS bezogen:

$\text{CDCl}_3$ :  $\delta = 7.26$  ppm für  $^1\text{H}$ - und  $\delta = 77.00$  ppm für  $^{13}\text{C}$ -Spektren

$\text{DMSO-}d_6$ :  $\delta = 2.49$  ppm für  $^1\text{H}$ - und  $\delta = 39.50$  ppm für  $^{13}\text{C}$ -Spektren.

Massenspektrometrische Analysen wurden an einem GC/MS-kombinierten GC/MS-Q95050A GC-17A Gerät der Marke SHIMADZU mit Direkteinlass (EI 70 eV) durchgeführt.

Hochauflösende Massenspektren erfolgten auf einem Finnigan MAT 8230 (EI 70 eV) sowie einem Finnigan MAT 900 S (ESI, 4 kV, 3  $\mu\text{A}$ , ACN/MeOH).

Elementaranalysen führte das Mikroanalytische Laboratorium der Universität Wien durch.

Die IR-Spektren wurden mittels eines KBr Presslings auf einem Perkin-Elmer FT-IR Spektrophotometer - Spectrum 1000 - aufgenommen.

### Chromatographische Trennungen:

Merck DC-Aluminiumfolien wurden für die dünnschichtchromatographischen Analysen (Kieselgel 60 F<sub>254</sub>, Nr. 1.05554.0001, 0.2 mm x 20 cm x 20 cm; Kieselgel 60 RP-18 F<sub>254s</sub>, Nr. 1.05559.0001, 0.2 mm x 20 cm x 20 cm) herangezogen.

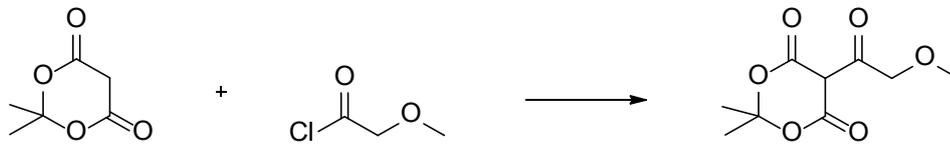
Bei der Säulenchromatographie wurde Merck Kieselgel 60 (70-230 mesh ASTM, Nr. 1.07734) eingesetzt.

Die Chemikalien wurden von den Firmen Sigma Aldrich ([www.sigma-aldrich.com](http://www.sigma-aldrich.com)), Acros ([www.acros.com](http://www.acros.com)) und VWR ([www.vwr.com](http://www.vwr.com)) bezogen.

## 3.2 Synthesen

### 3.2.1 Darstellung von Allyloxyethyl-SNAP (3)

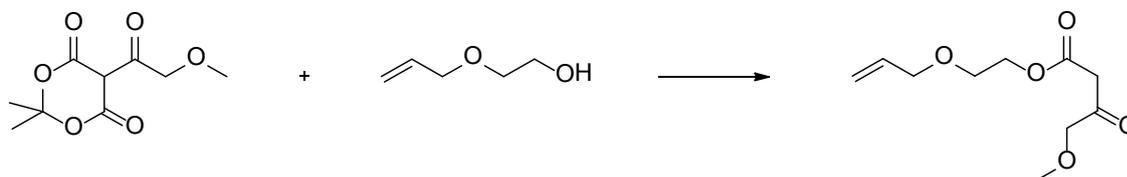
#### 3.2.1.1 5-(2-Methoxyacetyl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxan-4,6-dion (6)



2,2-Dimethyl-1,3-dioxan, Meldrumsäure, (11.18 g, 77.92 mmol) sowie Methoxyacetylchlorid (7.8 ml, 85.66 mmol) werden unter inerten Bedingungen in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  abs. (258.0 ml) gelöst. Nach erfolgter Lösung wird tropfenweise Pyridin (12.6 ml, 12.37 g, 156.40 mmol) bei  $0^\circ\text{C}$  zugegeben. Zunächst wird die Reaktionstemperatur für 1 h auf  $0^\circ\text{C}$  gehalten, die darauffolgende Stunde lässt man bei Raumtemperatur rühren. Das Reaktionsgemisch wird zuerst mit 1N HCl (172 ml) und  $\text{H}_2\text{O}$  (86 ml) gewaschen und die vereinigten organischen Phasen werden über wasserfreiem  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet.

Nach dem Abfiltrieren wird das Lösungsmittel im Vakuum abgedampft und der Rückstand **6** ohne zusätzliche Aufreinigung für den nächsten Reaktionsschritt eingesetzt.

### 3.2.1.2 2-Allyloxyethyl-4-methoxy-3-oxobutansäureester (7)

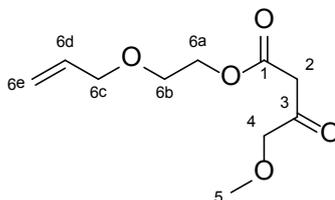


Der Rückstand **6** aus dem vorhergehenden Reaktionsschritt wird mit 111 ml Toluol versetzt und nach Zugabe von 25 ml (23.88 g, 233.71 mmol) Allyloxyethanol unter inerten Bedingungen auf 80°C erhitzt und diese Reaktionstemperatur für 24 h aufrecht erhalten.

Nach dem Eindampfen des Lösungsmittels und des restlichen Alkohols am Rotavapor wird der Rückstand mittels Vakuumdestillation gewonnen.<sup>210</sup>

Ausbeute: 15.25 g (39.3%) dunkelgelbes Öl

## Spektroskopische Daten



**$^1\text{H-NMR}$**  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) 3.36 (s, 2H), 3.65 (m, 2H), 3.96-3.99 (m, 2H), 4.04 (s, 2H), 4.22-4.27 (m, 2H), 5.27 (d, 2H,  $J=19.1$ ), 5.88 (m, 1H)

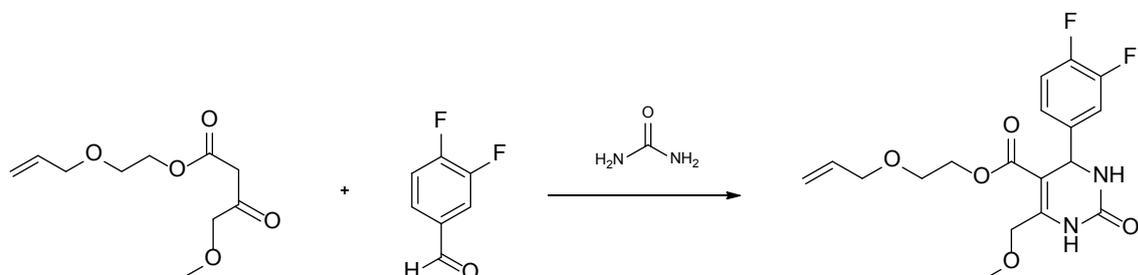
**$^{13}\text{C-NMR}$**  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) 45.6 (2- $\text{CH}_2$ ), 59.2 (5- $\text{OCH}_3$ ), 64.3 (9a- $\text{CH}_2$ ), 67.5 (9b- $\text{CH}_2$ ), 71.9 (9c- $\text{CH}_2$ ), 77.1 (4- $\text{CH}_2$ ), 117.1 (6d- $\text{CH}_2$ ), 134.4 (6c-CH), 166.9 (1-CO), 201.3 (3-CO)

**MS:**  $m/z$  (%) 73 (23), 69 (37), 60 (23), 57 (41), 55 (60), 43 (100), 42 (17), 41 (87)

**HRMS:**  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_5$ : 216.0998. Gefunden: 216.1003

Die analytischen Daten stimmen mit denen der Literatur überein.<sup>208</sup>

### 3.2.1.3 2-Allyloxyethyl-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester (8)



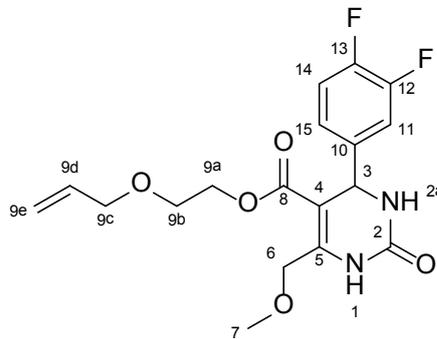
Eine gut gerührte Mischung aus 15.25 g (70.55 mmol) Allyloxyethylester **7**, 3,4-Difluorbenzaldehyd (8.0 ml, 10.33 g, 70.55 mmol) und Harnstoff (6.36 g, 105.92 mmol) in 60 ml THF wird unter inerten Bedingungen gelöst. Portionsweise wird bei Raumtemperatur  $\text{Cu}_2\text{O}$  (1.01 mg, 7.03 mmol) und  $\text{CH}_3\text{COOH}$  (412  $\mu\text{l}$ ) zugegeben. Danach wird tropfenweise Bortrifluoriddiethyletherat (11.3 ml, 91.59 mmol) hinzugefügt und anschließend 12 h zum Rückfluss erhitzt.

Nach erfolgter Umsetzung lässt man die Reaktionslösung abkühlen und gießt diese auf Eis (100 g) und  $\text{NaHCO}_3$  (20 g), das entstandene Gemisch wird über Celite filtriert und wird sodann mit 80 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  gewaschen.

Das Filtrat wird von den organischen Phasen getrennt, die nochmals mit 3 x 60 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  extrahiert wird. Die vereinigten organischen Phasen werden über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel am Rotavapor abgedampft. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (Kieselgel, EtOAc/PE 3:1) gereinigt und man erhält racemisches Pyrimidinon **8**.

Ausbeute: 12.39 g (45.9%) gelbes Öl

## Spektroskopische Daten



Im Spektrum sind die F-substituierten C-Atome 12 und 13 mittels  $^{13}\text{C}$ -NMR nicht detektierbar und scheinen daher nicht auf.

$^1\text{H}$ -NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) 3.43 (s, 3H, 7- $\text{CH}_3$ ), 3.94-4.23 (m, 6H, 9a- $\text{CH}_2$ , 9b- $\text{CH}_2$ , 9c- $\text{CH}_2$ ), 4.63 (s, 2H, 6- $\text{CH}_2$ ), 5.16-5.29 (m, 2H, 9e- $\text{CH}_2$ ), 5.76-5.96 (m, 1H, 9d-CH), 6.52 (s, 1H, 3-CH), 7.04-7.21 (m, 3H, 11-CH, 14-CH, 15-CH), 7.66 (s, 1H, NH)

$^{13}\text{C}$ -NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) 54.5 (3-CH), 59.1 (7- $\text{CH}_3$ ), 63.3 (9a- $\text{CH}_2$ ), 67.7 (9b- $\text{CH}_2$ ), 68.5 (6-OCH<sub>3</sub>), 71.9 (9c- $\text{CH}_2$ ), 98.4 (4-Cq), 115.6/115.9 (11-CH), 117.2 (9e- $\text{CH}_2$ ), 117.4/117.6 (14-CH), 134.2 (10-Cq), 147.6 (5-Cq), 152.2 (2-CO), 164.5 (8-COO)

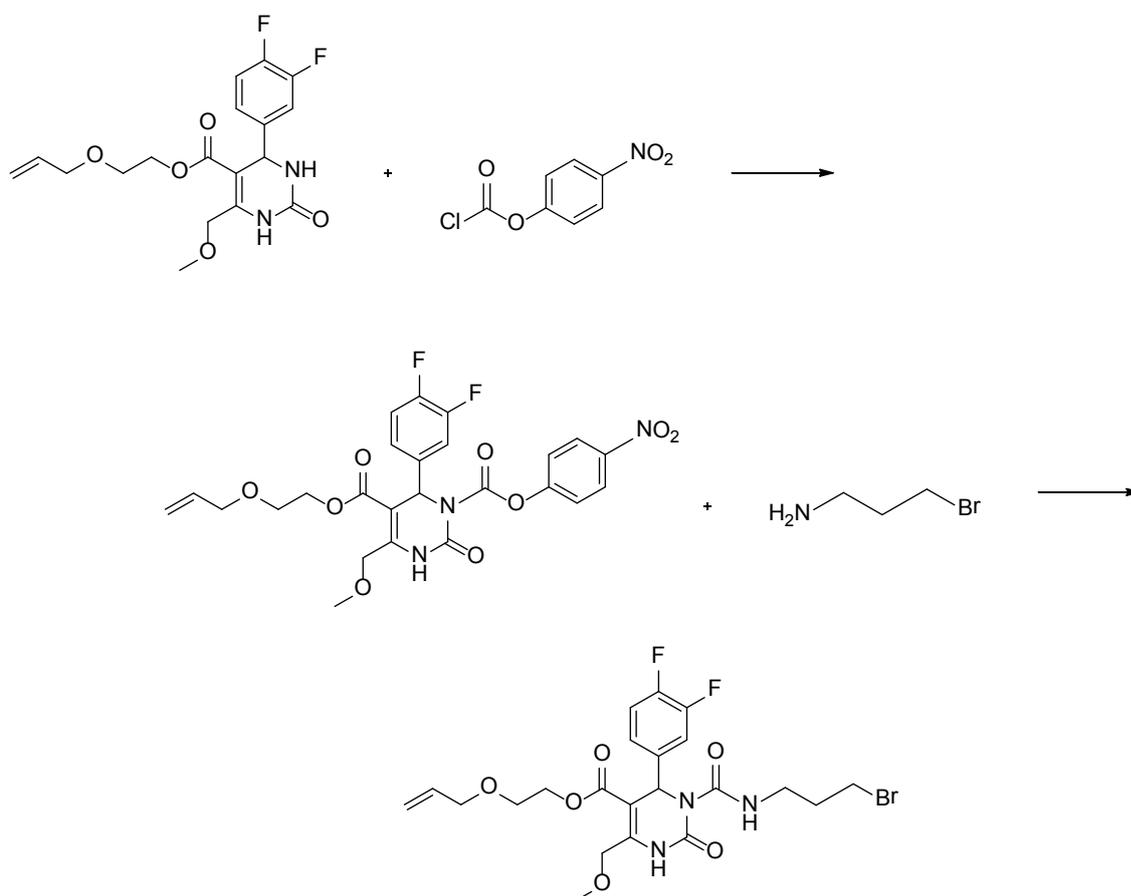
**HRMS:** m/z berechnet für  $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{O}_5\text{F}_2\text{N}_2$ : 383.1419. Gefunden: 383.1426

**CHN:** Anal. berechnet für  $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{O}_5\text{F}_2\text{N}_2 \cdot \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$ : C, 55.20; H, 5.16; N, 7.15.

Gefunden: C, 54.60; H, 5.10; N, 6.82.

Die analytischen Daten stimmen mit denen der Literatur überein.<sup>208</sup>

### 3.2.1.4 2-Allyloxyethyl-3-(3-bromopropylcarbamoyl)-4-(3,4-difluorophenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester (9)

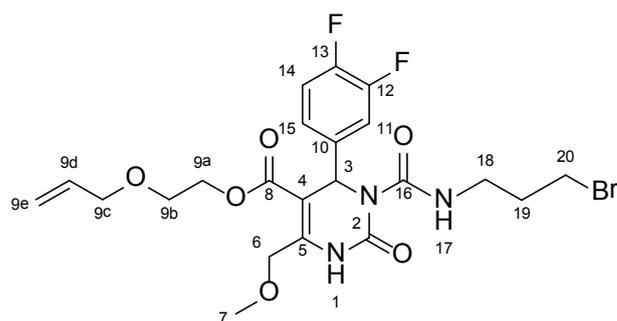


Eine Lösung von 12.39 g (32.43 mmol) Pyrimidinon **8** und 27.99 g (138.86 mmol) Chlorameisensäure-4-nitrophenylester (4-Nitrophenylchloroformiat) in 496 ml THF wird auf  $-78^{\circ}\text{C}$  abgekühlt. Dieser Lösung wird langsam 111.1 ml (111.1 mmol) Lithiumbis(trimethylsilyl)amid, 1M in THF (LiHMDS) zugetropft. Nach 10 min beendet man die Reaktion durch die Zugabe von 12.4 ml  $\text{H}_2\text{O}$ , erwärmt auf  $0^{\circ}\text{C}$  und versetzt mit 21.95 g (159.02 mmol)  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (Kaliumcarbonat), sowie 26.06 g (119.03 mmol) 3-Bromopropylamin Hydrobromid und erwärmt über Nacht auf Raumtemperatur. Die leuchtend gelbe Suspension wäscht man zweimal mit  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung und trennt die

Phasen, wobei man die wässrige Phase mit Diethylether ( $\text{Et}_2\text{O}$ ) extrahiert. Nach dem Vereinigen der organischen Phasen wird über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, das Lösungsmittel abrotiert und mittels säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  9:1) erhält man Bromid **9**.

Ausbeute: 7.04 g (54.7%)

## Spektroskopische Daten



Die F-substituierten C-Atome 12 und 13 erscheinen nicht im Spektrum, da sie mittels  $^{13}\text{C}$ -NMR nicht detektiert werden konnten.

$^1\text{H}$ -NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) 2.02-2.08 (m, 2H, 19- $\text{CH}_2$ ), 3.36-3.47 (m, 5H, 18, 7- $\text{CH}_3$ ), 3.60-3.62 (m, 2H, 20- $\text{CH}_2$ ), 3.94-4.29 (m, 6H, 9a- $\text{CH}_2$ , 9b- $\text{CH}_2$ , 9c- $\text{CH}_2$ ), 4.65 (s, 1H, 6- $\text{CH}_2$ ), 5.15-5.28 (m, 2H, 9e- $\text{CH}_2$ ), 5.75-5.94 (m, 1H, 9d-CH), 6.64 (s, 1H, 3-CH), 7.02-7.25 (m, 3H, 11-CH, 14-CH, 15-CH), 7.77 (s, 1H, 1-NH), 8.89 (t, 1H, 17-NH,  $J=5.6$  Hz)

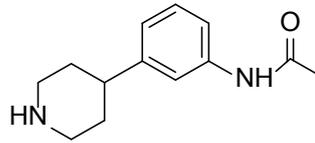
$^{13}\text{C}$ -NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) 30.4 (20- $\text{CH}_2$ ), 32.1 (19- $\text{CH}_2$ ), 39.1 (18- $\text{CH}_2$ ), 59.1 (7- $\text{CH}_3$ ), 63.7 (9a- $\text{CH}_2$ ), 67.6 (9b- $\text{CH}_2$ ), 68.1 (6- $\text{OCH}_2$ ), 71.9 (9c- $\text{CH}_2$ ), 101.5 (4-Cq), 116.0/116.4 (11-CH), 117.1 (9e- $\text{CH}_2$ ), 117.3/117.4 (14-CH), 122.9 (15-CH), 134.2 (9d-CH), 137.8 (10-Cq), 146.0 (5-Cq), 152.5 (2-CO), 153.2 (16-CO), 163.9 (8-COO)

**HRMS:**  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_6\text{BrF}_2\text{N}_3\text{H}$ : 548.1035. Gefunden  $(\text{M}+1)^+$ : 548.1044

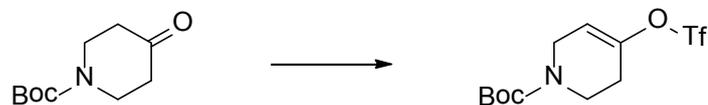
**CHN:** Anal. berechnet für  $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_6\text{BrF}_2\text{N}_3\text{H} \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$ : C, 47.58; H, 4.73; N, 7.57. Gefunden: C, 47.47; H, 4.81; N, 7.28.

Die analytischen Daten stimmen mit denen der Literatur überein.<sup>208</sup>

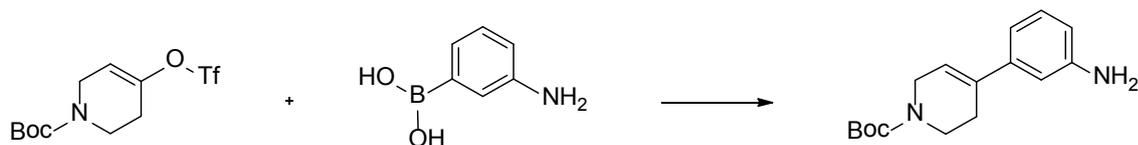
### 3.2.1.5 Darstellung von N-(3-(Piperidin-4-yl)phenyl)acetamid



#### 3.2.1.5.1 *t*-Butyl-4-(trifluormethylsulfonyloxy)-5,6-dihydropyridin-1(2H)-carbonsäureester (10)



In Modifikation der Literaturvorschrift<sup>206</sup> wird einer Lösung von 4-*N*-Boc-Piperidinon (25.00 g, 125.47 mmol) in 195 ml THF bei -78°C LiHMDS 1M in THF (163.1 ml, 163.1 mmol) langsam zugetropft, nach 30 min eine Lösung von *N*-Phenyltrifluoromethansulfonimid (Tf<sub>2</sub>NPh) (49.32 g, 138.10 mmol) in 147 ml THF zugetropft, für weitere 15 min bei -78°C gerührt und über Nacht auf Raumtemperatur erwärmt. Das erhaltene Reaktionsgemisch wird direkt im nächsten Reaktionsschritt ohne weitere Reinigung eingesetzt.

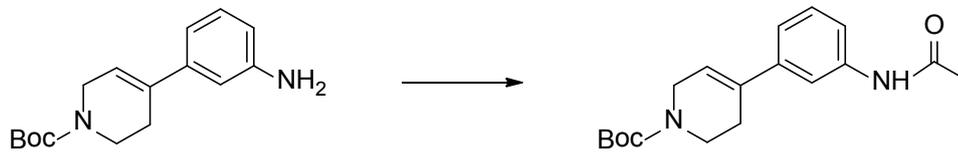
3.2.1.5.2 *t*-Butyl-4-(3-aminophenyl)-5,6-dihydropyridin-1(2H)-carbonsäureester (11)

Die rote Reaktionslösung von Enoltriflat **10** wird unter inerten Arbeitsbedingungen mit 195 ml Wasser und 488 ml THF verdünnt, mit  $K_2CO_3$  (47.24 g, 341.81 mmol), 3-Aminophenylboronsäure Hemisulfat (21.19 g, 113.96 mmol), 2.99 g Triphenylphosphin ( $PPh_3$ ) (11.43 mmol) und  $PdCl_2$  (1.01 g, 5.69 mmol) versetzt, entgast und über Nacht unter Inertgasatmosphäre zum Rückfluss erhitzt. Die erkaltete rotbraune Suspension wird in EtOAc aufgenommen, die Phasen getrennt, die wässrige Phase zweimal mit EtOAc extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über  $Na_2SO_4$  getrocknet. Nach Säulenchromatographie (Kieselgel, EtOAc/PE 3:1) erhält man als gelbes Harz Anilin **11**.

Ausbeute: 10.37 g (65.4%) gelbes Harz

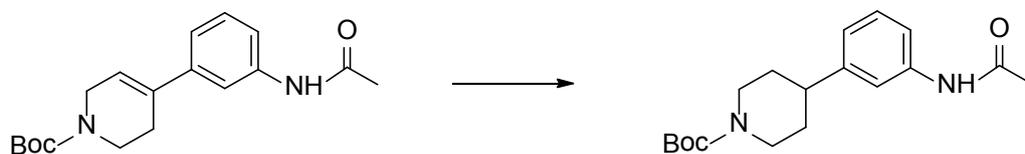
Die analytischen Daten stimmten mit denen der Literatur überein.<sup>206</sup>

3.2.1.5.3 *t*-Butyl-4-(3-acetamidophenyl)-5,6-dihydropyridin-1(2H)-carbonsäureester  
(12)



Eine Lösung von 10.37 g des gelben, honigartigen Harzes (37.80 mmol) der vorhergehenden Synthese in 73 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  wird mit 16.34 ml Pyridin (203.16 mmol) versetzt, auf  $0^\circ\text{C}$  gekühlt und langsam 7.18 ml Acetylchlorid (100.67 mmol) zugegeben ohne die Temperatur von  $10^\circ\text{C}$  zu überschreiten und nach 20 min auf Raumtemperatur erwärmt. Nach 1 h 30 min wird die Reaktion durch Zugabe von 20 ml gesättigter  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösung beendet. Das Gemisch wird in EtOAc aufgenommen, jeweils zweimal mit gesättigter  $\text{NH}_4\text{Cl}$ - und  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung gewaschen, die Phasen getrennt, die wässrigen Phasen mit EtOAc extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das nach anschließender Säulenfiltration (Kieselgel, EtOAc/PE 1:1) mit Eluentengraduation des braunen öligen Rohproduktes erhaltene, gelbe, ölige Gemisch **12**, wird ohne weitere Aufreinigung im nächsten Schritt umgesetzt.<sup>206</sup>

### 3.2.1.5.4 *t*-Butyl-4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-carbonsäureester (13)

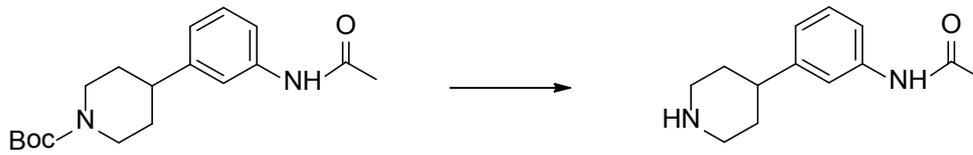


Das erhaltene Öl **12** wird in 126 ml MeOH gelöst und nach Zugabe des Katalysators Pd/C (10 Gew.-% Pd, 2.72 g, 2.55 mmol) während 60 h bei Normaldruck und Raumtemperatur hydriert. Die Suspension wird nachfolgend über Celite filtriert, mit MeOH gründlich nachgewaschen und das Lösungsmittel am Rotavapor zur Trockene eingedampft. Nach Säulenchromatographie (Kieselgel, EtOAc/PE 3:1) erhält man Acetamid **13** als Produkt.

Ausbeute: 8.97 g (44.3%) farbloses Harz

Die analytischen Daten stimmten mit denen der Literatur überein.<sup>206</sup>

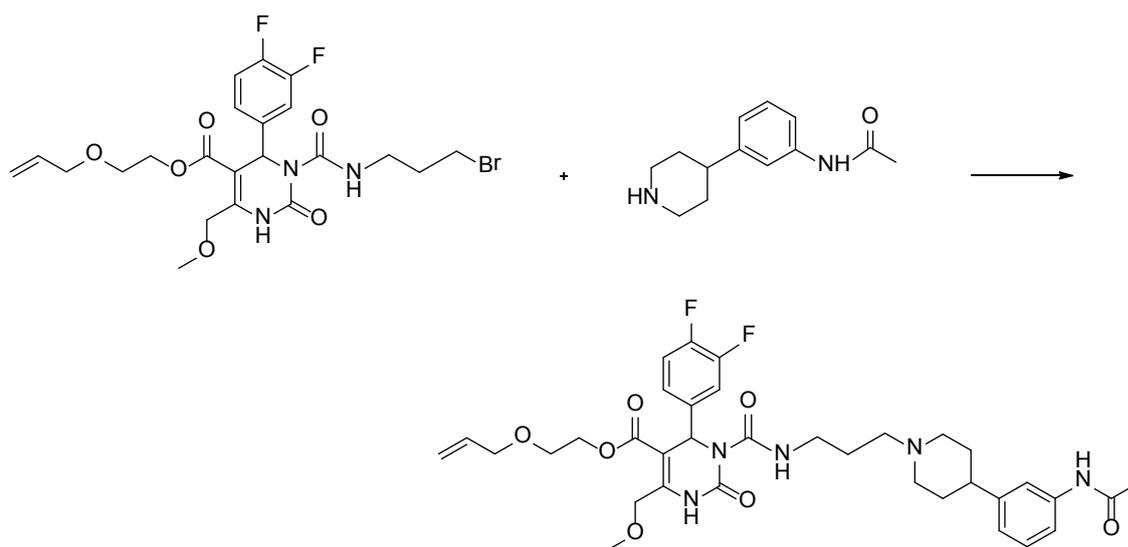
### 3.2.1.5.5 *N*-(3-(Piperidin-4-yl)phenyl)acetamid (14)



Zunächst wird eine Lösung von 3.19 g (10.04 mmol) Boc-geschütztem Amin **13** in 222 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  mit 14.9 ml TFA (194.54 mmol) versetzt und für 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wird mit 91 ml Toluol versetzt und das Lösungsmittel im Vakuum vollständig abrotiert.

Der Rückstand wird ohne weitere Aufreinigung für die Herstellung von Allyloxyethyl-SNAP eingesetzt.<sup>206</sup>

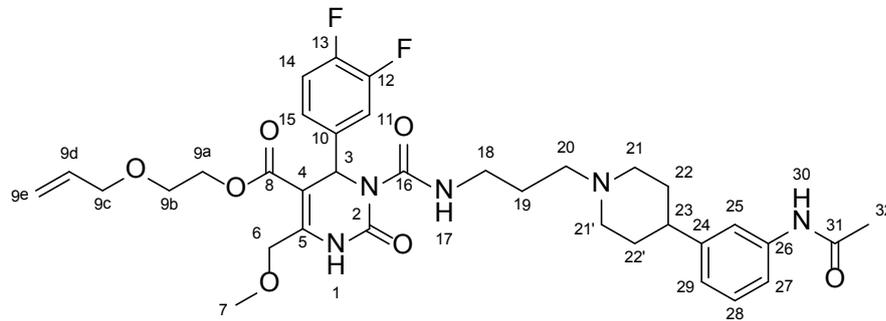
**3.2.1.6 2-Allyloxyethyl-3-(3-(4-(3-acetamidophenyl)-piperidin-1-yl)propylcarbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester (3)**



Die Seitenkette **14** wird in 497 ml ACN aufgenommen, mit 7.04 g (12.89 mmol) Bromid **9** und 18.53 g (134.07 mmol)  $K_2CO_3$  versetzt und unter Inertgasatmosphäre für 37 h bei 35°C gerührt. Anschließend wird die gelbe Suspension filtriert, der Filtrerrückstand gründlich mit EtOAc gewaschen und das Filtrat am Rotavapor vom Lösungsmittel befreit. Der ölige Rückstand wird in EtOAc aufgenommen, zweimal mit gesättigter  $NaHCO_3$ -Lösung gewaschen, nach der Phasentrennung wird die wässrige Phase mit EtOAc extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über  $Na_2SO_4$  getrocknet und im Vakuum das Lösungsmittel entfernt. Man erhält mittels Säulenchromatographie (Kieselgel,  $CH_2Cl_2/MeOH$  9:1) das Rohprodukt als gelbbraunes Öl.

Ausbeute: 6.63 g (57.8%) gelbbraunes Öl

## Spektroskopische Daten



Die F-substituierten C-Atome 12 und 13 konnten mittels  $^{13}\text{C}$ -NMR nicht detektiert werden und erscheinen nicht im Spektrum.

$^1\text{H}$ -NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) 1.72-1.81 (m, 6H, 19- $\text{CH}_2$ , 22- $\text{CH}_2$ , 22'- $\text{CH}_2$ ), 1.99 und 2.99 (m, 4H, 21- $\text{CH}_2$ , 21'- $\text{CH}_2$ ), 2.11 (s, 3H, 32- $\text{CH}_3$ ), 2.39 (m, 2H, 20- $\text{CH}_2$ ), 2.42 (m, 1H), 3.29 und 3.39 (m, 2H, 18- $\text{CH}_2$ ), 3.37 (s, 3H, 7- $\text{CH}_3$ ), 3.55-3.60 (m, 2H, 9b- $\text{CH}_2$ ), 3.92 und 3.94 (d, 2H, 9c- $\text{CH}_2$ ,  $J=5.6$  Hz), 4.17 und 4.29 (m, 2H, 9a- $\text{CH}_2$ ), 4.63 (m, 2H, 6- $\text{CH}_2$ ), 5.12-5.26 (m, 2H, 9e- $\text{CH}_2$ ), 5.81 (m, 1H, 9d-CH), 6.65 (s, 1H, 3-CH), 6.90 (d, 1H, 29-CH,  $J=7.44$ ), 6.98-7.19 (m, 5H, 11-CH, 14-CH, 15-CH, 27-CH, 28-CH), 7.25 (s, 1H, 25-CH), 7.44 (s, 1H, 30-NH), 7.95 (s, 1H, 1-NH), 8.98 (t, 1H, 17-NH,  $J=5.3$  Hz)

$^{13}\text{C}$ -NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) 24.4 (32- $\text{CH}_3$ ), 26.3 (19- $\text{CH}_2$ ), 32.8 (22, 22'- $\text{CH}_2$ ), 39.5 (18- $\text{CH}_2$ ), 42.5 (23-CH), 53.1 (3-CH), 54.2 (21, 21'- $\text{CH}_2$ ), 56.5 (20- $\text{CH}_2$ ), 58.9 (7- $\text{OCH}_3$ ), 63.6 (9a- $\text{CH}_2$ ), 67.6 (9b- $\text{CH}_2$ ), 67.9 (6- $\text{OCH}_2$ ), 71.9 (9c- $\text{CH}_2$ ), 101.7 (4-Cq), 115.9/116.3 (11-CH), 116.9 (9e- $\text{CH}_2$ ), 117.2/117.3 (14-CH), 117.6 (27-CH), 118.2 (25-CH), 112.7 (29-CH), 122.8 (15-CH), 128.7 (28-CH), 134.2 (9d-CH), 137.8 (10-Cq), 138.2 (26-Cq), 146.2 (5-Cq), 147.16 (24-Cq), 152.3 (2-CO), 153.0 (16-CO), 164.0 (8-COO), 168.6 (31-CON)

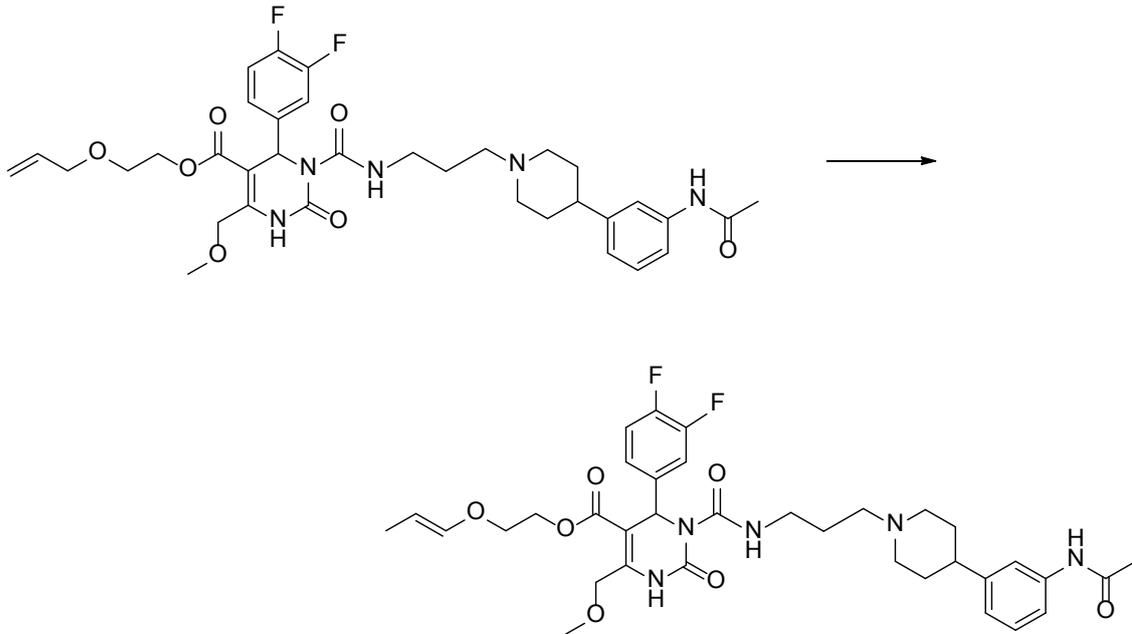
**MS:** m/z (%) 280 (33), 231 (100), 221 (21), 167 (34), 70 (26), 45 (21), 44 (21), 43 (54), 42 (31), 41 (57)

**HRMS:** m/z berechnet für  $C_{35}H_{43}O_7F_2N_5H$ : 684.3209. Gefunden  $(M+1)^+$ : 684.3195

**CHN:** berechnet für  $C_{35}H_{43}O_7F_2N_5H \cdot H_2O$ : C, 59.90; H, 6.19; N, 9.98. Gefunden: C, 59.09; H, 6.35; N, 9.69.

Die analytischen Daten stimmten mit denen der Literatur überein.<sup>204</sup>

3.2.1.7 *trans*-2-(Prop-1-enyloxy)ethyl-3-(3-(4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-yl)propylcarbamoyl)-4-(3,4-difluorophenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäure-ester  
(15)



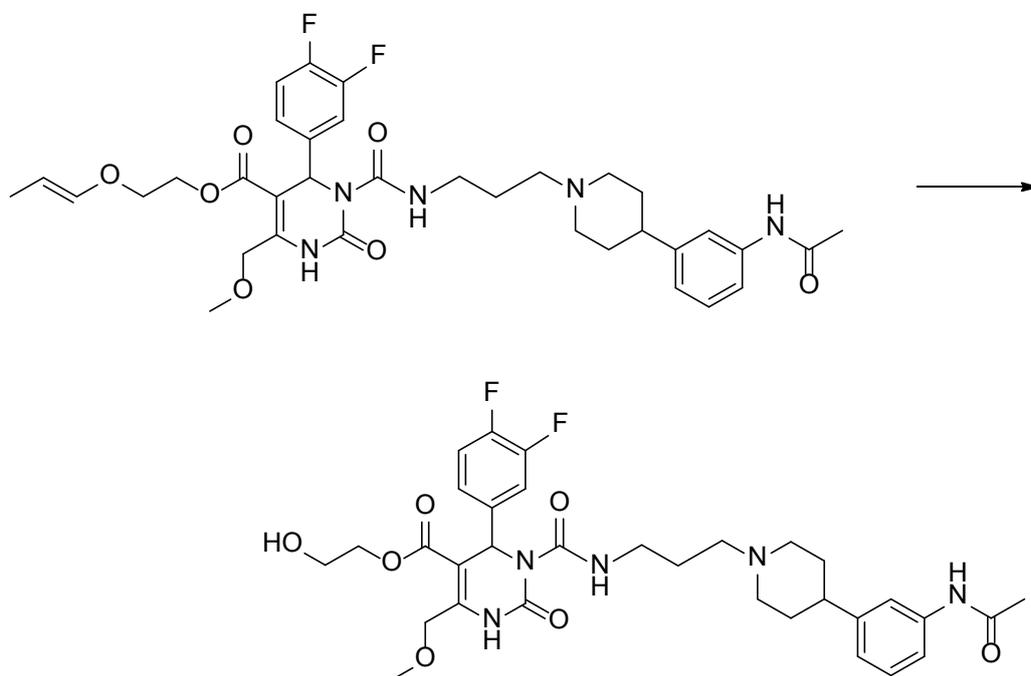
150.00 mg (0.22 mmol) Allylether **3**, gelöst in 90% EtOH, werden mit 103.00 mg Diazabicylooctan (DABCO) (0.92 mmol, 4.20 Äq) versetzt und dann auf 80°C erhitzt. Nach Erreichen der Temperatur werden 52 mg (0.06 mmol, 0.26 Äq) RhCl (PPh<sub>3</sub>)<sub>3</sub> hinzugefügt und das Reaktionsgemisch für 15 min bei 80°C gerührt. Anschließend wird auf Raumtemperatur abgekühlt und mit Puffer (pH 7.0) gequenchet. Die wässrige Phase wird mit Et<sub>2</sub>O (3 x 10 ml) extrahiert, danach werden die vereinigten organischen Phasen über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, das Trocknungsmittel filtriert und anschließend am Rotavapor vom Lösungsmittel befreit. Das entstandene Produkt wird ohne weitere Aufreinigung für den nächsten Schritt eingesetzt.

Ausbeute: 420.00 mg Rohprodukt

## 3.2.2 Darstellung der Ethylderivate HE@SNAP und TOE@SNAP

### 3.2.2.1 Darstellung von HE@SNAP (4)

2-Hydroxyethyl-3-(3-(4-(3-acetamidophenyl)-piperidin-1-yl)propyl-carbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester



Eine Lösung von 166.43 mg  $\text{HgCl}_2$  (0.61 mmol) in 2.0 ml Aceton/ $\text{H}_2\text{O}$  (10:1) wird tropfenweise unter Rühren zu einer Lösung des Rohproduktes **15** (420.00 mg, 0.61 mmol) und gelbem  $\text{HgO}$  (166.43 mg, 0.77 mmol) in 6.0 ml Aceton/ $\text{H}_2\text{O}$  (10:1) über 3 min zugegeben. Dabei wird die Produktumsetzung mittels DC-Kontrolle kontrolliert. Dann wird  $\text{HgO}$  mittels Filtration über Celite entfernt und Aceton im Vakuum abgedampft. Säulenchromatographisch (Kieselgel,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  10:1) wird der

Rückstand gereinigt, wobei ein Teil des Eduktes **15** für eine nochmalige Umsetzung wieder rückgewonnen werden kann.

Ausbeute: 51.1 mg (78.7%) gelbes Harz

### Spektroskopische Daten

**<sup>1</sup>H-NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) 1.74-1.85 (m, 6H, 19-CH<sub>2</sub>, 22,22'-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 2.02-2.09 und 3.01-3.06 (m, 4H, 21,21'-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 2.09 (s, 3H, 32-CH<sub>3</sub>), 2.42-2.45 (m, 3H, 20-CH<sub>2</sub>, 23-CH), 3.27-3.31 (m, 2H, 18-CH<sub>2</sub>), 3.39 (s, 3H, 7-OCH<sub>3</sub>), 3.74 (t, 2H, *J* = 4.4 Hz, 9b-CH<sub>2</sub>OH), 4.10-4.20 (m, 2H, 9a-OCH<sub>2</sub>), 4.62 (s, 2H, 6-OCH<sub>2</sub>), 6.62 (s, 1H, 3-CH), 6.86 (d, 1H, *J* = 7.5 Hz, 29-CH), 6.94-7.23 (m, 5H, 11-CH, 14-CH, 15-CH, 27-CH, 28-CH), 7.33-7.39 (m, 2H, 25-CH, 30-NH), 8.53 (s, 1H, 1-NH), 8.99 (t, 1H, *J* = 5.4 Hz, 17-NH)

**<sup>13</sup>C-NMR** (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) 24.1 (32-CH<sub>3</sub>), 25.8 (19-CH<sub>2</sub>), 32.2 (22,22'-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 39.2 (18-CH<sub>2</sub>), 42.0 (23-CH), 53.0 (3-CH), 53.9 (21,21'-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 56.1 (20-CH<sub>2</sub>), 58.9 (7-OCH<sub>3</sub>), 60.3 (9b-CH<sub>2</sub>OH), 66.2 (9a-OCH<sub>2</sub>), 67.9 (6-OCH<sub>2</sub>), 101.6 (4-C), 115.8/116.1 (11-CH), 117.1/117.4 (14-CH), 117.8 (27-CH), 118.0 (25-CH), 122.6 (29-CH), 122.7/122.8 (15-CH), 128.7 (28-CH), 137.6 (10-C), 138.3 (26-C), 146.4 (5-C), 147.4 (24-C), 152.2 (2-CO), 153.2 (16-CO), 164.1 (8-COO), 169.0 (31-CON)

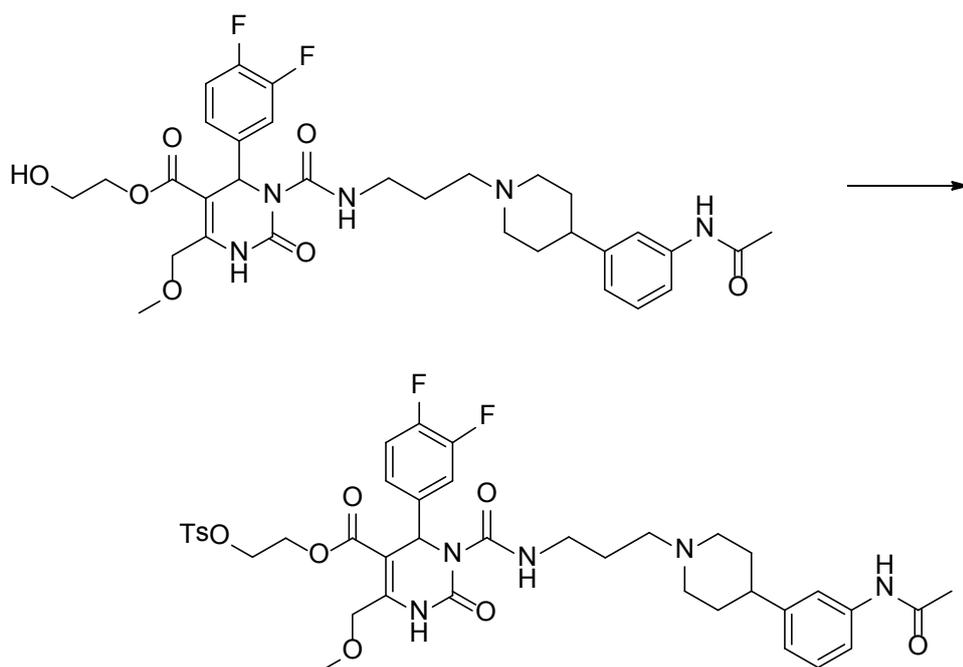
**MS:** *m/z* (%) 644 (32), 345 (16), 302 (100), 259 (17), 231 (20), 160 (4), 114 (5)

**HRMS:** *m/z* berechnet für C<sub>32</sub>H<sub>40</sub>F<sub>2</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub> [M + H]<sup>+</sup>: 644.2896. Gefunden: 644.2902.

Die analytischen Daten stimmen mit denen der Literatur überein.<sup>204</sup>

## 3.2.2.2 Darstellung von TOE@SNAP (2)

2-(Tosyloxy)ethyl-3-(3-(4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-yl)propyl-carbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester



Herstellung von  $\text{Ag}_2\text{O}$ :<sup>214</sup> Eine Lösung von  $\text{NaOH}$  (90 mg, 2.24 mmol) in  $\text{H}_2\text{O}$  (2.2 ml) wird auf 80-90°C erhitzt und zu einer ebenfalls 80-90°C heißen Lösung von  $\text{AgNO}_3$  (391 mg, 2.30 mmol) in  $\text{H}_2\text{O}$  (2.6 ml) zugefügt. Rasch wird die resultierende heiße Suspension filtriert, der Filterkuchen mit 2.6 ml heißem  $\text{H}_2\text{O}$ , sowie 2.6 ml 95-%igem  $\text{EtOH}$  und 2.6 ml  $\text{EtOH}$  abs. gewaschen und das entstandene  $\text{Ag}_2\text{O}$  an der Pumpe getrocknet.

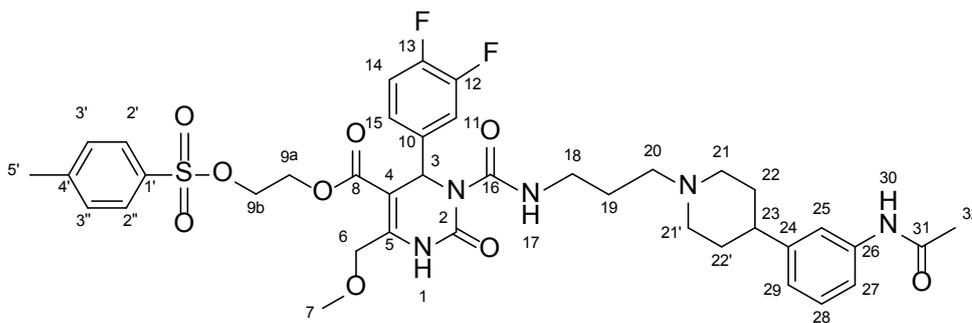
Zu einer Lösung des Alkohols **4** (131 mg, 0.20 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (4.0 ml) wird frisch hergestelltes  $\text{Ag}_2\text{O}$  (94 mg, 0.41 mmol), Tosylchlorid (77 mg, 0.41 mmol) und  $\text{KI}$  (67 mg, 0.41 mmol) unter Rühren zugegeben. Die Mischung wird bei 40°C gerührt bis die

Reaktion beendet ist (DC-Kontrolle). Das Reaktionsgemisch wird filtriert, das Lösungsmittel abrotiert, der Rückstand mit SC gereinigt (Kieselgel,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  9:1).

Ausbeute: 84 mg (64.1%)

### Spektroskopische Daten

Die analytischen Daten der  $^{13}\text{C}$ - und  $^1\text{H}$ -Magnetresonanzspektroskopie werden im Folgenden bezogen auf diese Nummerierung des TOE@SNAP-Moleküls angegeben.



$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) 1.78-1.86 (m, 4H, 22,22'-( $\text{CH}_2$ )<sub>2</sub>), 1.79 (m, 2H, 19- $\text{CH}_2$ ), 2.09 (m, 4H, 21,21'-( $\text{CH}_2$ )<sub>2</sub>), 2.16 (s, 3H, 32- $\text{CH}_3$ ), 2.44 (s, 3H, Tos- $\text{CH}_3$ ), 2.47 (m, 1H, 23-CH), 2.48 (m, 2H, 20- $\text{CH}_2$ ), 3.32-3.41 (m, 2H, 18- $\text{CH}_2$ ), 3.45 (s, 3H, 7- $\text{OCH}_3$ ), 4.19 (m, 2H, 9b- $\text{OCH}_2$ ), 4.29 (m, 2H, 9a- $\text{OCH}_2$ ), 4.62 (s, 2H, 6- $\text{OCH}_2$ ), 6.61 (s, 1H, 3-CH), 6.94 (d, 1H,  $J = 7.6$  Hz, 29-CH), 7.04 (m, 1H, 14-CH), 7.09 (m, 1H, 15-CH), 7.15 (m, 1H, 11-CH), 7.20 (m, 1H, 28-CH), 7.33 (m, 1H, 27-CH), 7.34 (m, 2H, 3',3''-( $\text{CH}$ )<sub>2</sub>), 7.44 (s, 1H, 25-CH), 7.60 (s, 1H, 30-NH), 7.76 (m, 2H, 2',2''-( $\text{CH}$ )<sub>2</sub>), 8.01 (s, 1H, 1-NH), 8.96 (t, 1H,  $J = 5.4$  Hz, 17-NH)

$^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) 21.6 (Tos- $\text{CH}_3$ ), 24.5 (32- $\text{CH}_3$ ), 26.2 (19- $\text{CH}_2$ ), 32.6 (22,22'-( $\text{CH}_2$ )<sub>2</sub>), 39.5 (18- $\text{CH}_2$ ), 42.3 (23-CH), 53.1 (3-CH), 54.2 (21,21'-( $\text{CH}_2$ )<sub>2</sub>), 56.5 (20-

CH<sub>2</sub>), 59.1 (7-OCH<sub>3</sub>), 61.9 (9a-OCH<sub>2</sub>), 67.2 (9b-OCH<sub>2</sub>), 68.1 (6-OCH<sub>2</sub>), 100.9 (4-CH), 116.0 (11-CH), 117.4 (14-CH), 117.7 (27-CH), 118.2 (25-CH), 122.8 (29-CH), 123.2 (15-CH), 127.9 (2',2''-CH), 128.9 (28-CH), 130.0 (3',3''-CH), 132.5 (1'-C), 137.6 (10-C), 138.1 (26-C), 145.2 (4'-C), 147.1 (5-C, 24-C), 150.0 (12- oder 13-CF), 150.2 (12- oder 13-CF), 152.1 (2-CO), 153.0 (16-CO), 163.7 (8-COO), 168.5 (31-CON)

<sup>19</sup>F-NMR (471 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) -136.7 (m, 12- oder 13-CF), -138.4 (m, 12- oder 13-CF)

MS: m/z (%) 812 (87), 615 (5), 468 (2), 345 (5), 302 (100), 260 (1)

HRMS: m/z berechnet für C<sub>39</sub>H<sub>46</sub>F<sub>2</sub>N<sub>5</sub>O<sub>9</sub>S [M + H]<sup>+</sup>: 798.2984. Gefunden: 798.2997.

Die analytischen Daten stimmen mit denen der Literatur überein.<sup>204</sup>



## 4 LITERATURVERZEICHNIS

1. . (Accessed at <http://medicineworld.org/images/blogs/3-2008/pet-ct-scanner-41234692.jpg>.)
2. Anderson JL, Crawford CB, Nadeau J, Lindberg T. Was the Duchess of windsor right? A cross-cultural review of the socioecology of ideals of female body shape. *Ethology and Sociobiology* 1992;13:197-227.
3. Aronne LJ, Segal KR. Weight gain in the treatment of mood disorders. *The Journal of clinical psychiatry* 2003;64 Suppl 8:22-9.
4. Ogden CL, Carroll MD, Kit BK, Flegal KM. Prevalence of obesity in the United States, 2009-2010. *NCHS data brief* 2012;1-8.
5. WHO. Obesity and overweight Fact sheet N°311. 2012.
6. Quetelet A. *Anthropométrie ou Mesure des différentes facultés de l'homme*. Bruxelles: C. Muquardt; 1870.
7. Romero-Corral A, Somers VK, Sierra-Johnson J, et al. Accuracy of body mass index in diagnosing obesity in the adult general population. *International journal of obesity* 2008;32:959-66.
8. Graf C. Adipositas. *Diabetologe* 2011;7:271-9.
9. Schneider HJ, Friedrich N, Klotsche J, et al. The predictive value of different measures of obesity for incident cardiovascular events and mortality. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2010;95:1777-85.
10. St-Onge MP, Wang J, Shen W, et al. Dual-energy x-ray absorptiometry-measured lean soft tissue mass: differing relation to body cell mass across the adult life span. *The journals of gerontology Series A, Biological sciences and medical sciences* 2004;59:796-800.
11. Williams CA, Bale P. Bias and limits of agreement between hydrodensitometry, bioelectrical impedance and skinfold calipers measures of percentage body fat. *European journal of applied physiology and occupational physiology* 1998;77:271-7.
12. Slawik M, Beuschlein F. [Obesity - clinical impact and therapeutic strategies]. *Der Radiologe* 2011;51:346, 8-51.
13. Wright SM, Aronne LJ. Causes of obesity. *Abdominal imaging* 2012;37:730-2.
14. Keith SW, Redden DT, Katzmarzyk PT, et al. Putative contributors to the secular increase in obesity: exploring the roads less traveled. *International journal of obesity* 2006;30:1585-94.
15. Swinburn BA, Sacks G, Hall KD, et al. The global obesity pandemic: shaped by global drivers and local environments. *Lancet* 2011;378:804-14.

16. Raben A, Agerholm-Larsen L, Flint A, Holst JJ, Astrup A. Meals with similar energy densities but rich in protein, fat, carbohydrate, or alcohol have different effects on energy expenditure and substrate metabolism but not on appetite and energy intake. *The American journal of clinical nutrition* 2003;77:91-100.
17. Newell-Price J, Bertagna X, Grossman AB, Nieman LK. Cushing's syndrome. *Lancet* 2006;367:1605-17.
18. Lloret-Linares C, Faucher P, Coupaye M, et al. Comparison of body composition, basal metabolic rate and metabolic outcomes of adults with Prader Willi syndrome or lesional hypothalamic disease, with primary obesity. *International journal of obesity* 2013.
19. Buscher AK, Cetiner M, Buscher R, Wingen AM, Hauffa BP, Hoyer PF. Obesity in patients with Bardet-Biedl syndrome: influence of appetite-regulating hormones. *Pediatric nephrology* 2012;27:2065-71.
20. Gangwisch JE, Malaspina D, Boden-Albala B, Heymsfield SB. Inadequate sleep as a risk factor for obesity: analyses of the NHANES I. *Sleep* 2005;28:1289-96.
21. Spiegel K, Tasali E, Penev P, Van Cauter E. Brief communication: Sleep curtailment in healthy young men is associated with decreased leptin levels, elevated ghrelin levels, and increased hunger and appetite. *Annals of internal medicine* 2004;141:846-50.
22. Nihalani N, Schwartz TL, Siddiqui UA, Megna JL. Obesity and psychotropics. *CNS neuroscience & therapeutics* 2012;18:57-63.
23. Campbell IW, Haslam DW. *Obesity: Your Questions Answered*: Churchill Livingstone; 2005.
24. McFarlane SI. Antidiabetic medications and weight gain: implications for the practicing physician. *Current diabetes reports* 2009;9:249-54.
25. Pasarica M, Shin AC, Yu M, et al. Human adenovirus 36 induces adiposity, increases insulin sensitivity, and alters hypothalamic monoamines in rats. *Obesity* 2006;14:1905-13.
26. Vangipuram SD, Yu M, Tian J, et al. Adipogenic human adenovirus-36 reduces leptin expression and secretion and increases glucose uptake by fat cells. *International journal of obesity* 2007;31:87-96.
27. Atkinson RL, Dhurandhar NV, Allison DB, et al. Human adenovirus-36 is associated with increased body weight and paradoxical reduction of serum lipids. *International journal of obesity* 2005;29:281-6.
28. Allison DB, Fontaine KR, Manson JE, Stevens J, VanItallie TB. Annual deaths attributable to obesity in the United States. *JAMA : the journal of the American Medical Association* 1999;282:1530-8.

29. Mokdad AH, Marks JS, Stroup DF, Gerberding JL. Actual causes of death in the United States, 2000. *JAMA : the journal of the American Medical Association* 2004;291:1238-45.
30. Ezzati M, Lopez AD, Rodgers A, Vander Hoorn S, Murray CJ, Comparative Risk Assessment Collaborating G. Selected major risk factors and global and regional burden of disease. *Lancet* 2002;360:1347-60.
31. Fontaine KR, Redden DT, Wang C, Westfall AO, Allison DB. Years of life lost due to obesity. *JAMA : the journal of the American Medical Association* 2003;289:187-93.
32. Peeters A, Barendregt JJ, Willekens F, et al. Obesity in adulthood and its consequences for life expectancy: a life-table analysis. *Annals of internal medicine* 2003;138:24-32.
33. Stevens J, Cai J, Pamuk ER, Williamson DF, Thun MJ, Wood JL. The effect of age on the association between body-mass index and mortality. *The New England journal of medicine* 1998;338:1-7.
34. Calle EE, Thun MJ, Petrelli JM, Rodriguez C, Heath CW, Jr. Body-mass index and mortality in a prospective cohort of U.S. adults. *The New England journal of medicine* 1999;341:1097-105.
35. Dalton M, Cameron AJ, Zimmet PZ, et al. Waist circumference, waist-hip ratio and body mass index and their correlation with cardiovascular disease risk factors in Australian adults. *Journal of internal medicine* 2003;254:555-63.
36. Slawik M, Beuschlein F. [Genetics and pathophysiology of obesity]. *Der Internist* 2006;47:120-9.
37. Ford ES, Giles WH, Dietz WH. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA : the journal of the American Medical Association* 2002;287:356-9.
38. Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ. The metabolic syndrome. *Lancet* 2005;365:1415-28.
39. Wannamethee SG, Shaper AG, Durrington PN, Perry IJ. Hypertension, serum insulin, obesity and the metabolic syndrome. *Journal of human hypertension* 1998;12:735-41.
40. Foufelle F, Ferre P. New perspectives in the regulation of hepatic glycolytic and lipogenic genes by insulin and glucose: a role for the transcription factor sterol regulatory element binding protein-1c. *The Biochemical journal* 2002;366:377-91.
41. Sutherland JP, McKinley B, Eckel RH. The metabolic syndrome and inflammation. *Metabolic syndrome and related disorders* 2004;2:82-104.

42. Lewis GF, Uffelman KD, Szeto LW, Weller B, Steiner G. Interaction between free fatty acids and insulin in the acute control of very low density lipoprotein production in humans. *The Journal of clinical investigation* 1995;95:158-66.
43. Taghibiglou C, Rashid-Kolvear F, Van Iderstine SC, et al. Hepatic very low density lipoprotein-ApoB overproduction is associated with attenuated hepatic insulin signaling and overexpression of protein-tyrosine phosphatase 1B in a fructose-fed hamster model of insulin resistance. *The Journal of biological chemistry* 2002;277:793-803.
44. Eckel RH. Lipoprotein lipase. A multifunctional enzyme relevant to common metabolic diseases. *The New England journal of medicine* 1989;320:1060-8.
45. Kwiterovich PO, Jr. Clinical relevance of the biochemical, metabolic, and genetic factors that influence low-density lipoprotein heterogeneity. *The American journal of cardiology* 2002;90:30i-47i.
46. Whitlock G, Lewington S, Sherliker P, et al. Body-mass index and cause-specific mortality in 900 000 adults: collaborative analyses of 57 prospective studies. *Lancet* 2009;373:1083-96.
47. Redberg RF, Benjamin EJ, Bittner V, et al. AHA/ACCF [corrected] 2009 performance measures for primary prevention of cardiovascular disease in adults: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association task force on performance measures (writing committee to develop performance measures for primary prevention of cardiovascular disease): developed in collaboration with the American Academy of Family Physicians; American Association of Cardiovascular and Pulmonary Rehabilitation; and Preventive Cardiovascular Nurses Association: endorsed by the American College of Preventive Medicine, American College of Sports Medicine, and Society for Women's Health Research. *Circulation* 2009;120:1296-336.
48. Bray GA, Clearfield MB, Fintel DJ, Nelinson DS. Overweight and obesity: the pathogenesis of cardiometabolic risk. *Clinical cornerstone* 2009;9:30-40; discussion 1-2.
49. Corti R, Hutter R, Badimon JJ, Fuster V. Evolving concepts in the triad of atherosclerosis, inflammation and thrombosis. *Journal of thrombosis and thrombolysis* 2004;17:35-44.
50. Kenchaiah S, Gaziano JM, Vasan RS. Impact of obesity on the risk of heart failure and survival after the onset of heart failure. *The Medical clinics of North America* 2004;88:1273-94.
51. Freeman HJ. Risk of gastrointestinal malignancies and mechanisms of cancer development with obesity and its treatment. *Best practice & research Clinical gastroenterology* 2004;18:1167-75.

52. Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, Thun MJ. Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. *The New England journal of medicine* 2003;348:1625-38.
53. Borrueal S, Fernandez-Duran E, Alpanes M, et al. Global Adiposity and Thickness of Intra-peritoneal and Mesenteric Adipose Tissue Depots Are Increased in Women With Polycystic Ovary Syndrome (PCOS). *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2013.
54. Haslam DW, James WP. Obesity. *Lancet* 2005;366:1197-209.
55. Strauss RS, Barlow SE, Dietz WH. Prevalence of abnormal serum aminotransferase values in overweight and obese adolescents. *The Journal of pediatrics* 2000;136:727-33.
56. Ioachimescu OC, Teodorescu M. Integrating the Overlap of Obstructive Lung Disorders with Obstructive Sleep Apnea: OLDOSA Syndrome. *Respirology* 2013.
57. Thomasouli MA, Brady EM, Davies MJ, et al. The impact of diet and lifestyle management strategies for obstructive sleep apnoea in adults: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Sleep & breathing = Schlaf & Atmung* 2013.
58. Giannuzzi P, Mezzani A, Saner H, et al. Physical activity for primary and secondary prevention. Position paper of the Working Group on Cardiac Rehabilitation and Exercise Physiology of the European Society of Cardiology. *European journal of cardiovascular prevention and rehabilitation : official journal of the European Society of Cardiology, Working Groups on Epidemiology & Prevention and Cardiac Rehabilitation and Exercise Physiology* 2003;10:319-27.
59. Petersen L, Schnohr P, Sorensen TI. Longitudinal study of the long-term relation between physical activity and obesity in adults. *International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity* 2004;28:105-12.
60. Van Gaal LF, Broom JI, Enzi G, Toplak H. Efficacy and tolerability of orlistat in the treatment of obesity: a 6-month dose-ranging study. Orlistat Dose-Ranging Study Group. *European journal of clinical pharmacology* 1998;54:125-32.
61. Torgerson JS, Hauptman J, Boldrin MN, Sjostrom L. XENical in the prevention of diabetes in obese subjects (XENDOS) study: a randomized study of orlistat as an adjunct to lifestyle changes for the prevention of type 2 diabetes in obese patients. *Diabetes care* 2004;27:155-61.
62. Kuo CS, Pei D, Yao CY, Hsieh MC, Kuo SW. Effect of orlistat in overweight poorly controlled Chinese female type 2 diabetic patients: a randomised, double-blind, placebo-controlled study. *International journal of clinical practice* 2006;60:906-10.

63. James WP, Astrup A, Finer N, et al. Effect of sibutramine on weight maintenance after weight loss: a randomised trial. STORM Study Group. Sibutramine Trial of Obesity Reduction and Maintenance. *Lancet* 2000;356:2119-25.
64. Serrano-Rios M, Melchionda N, Moreno-Carretero E, Spanish I. Role of sibutramine in the treatment of obese Type 2 diabetic patients receiving sulphonylurea therapy. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association* 2002;19:119-24.
65. Sharma AM, Caterson ID, Coutinho W, et al. Blood pressure changes associated with sibutramine and weight management - an analysis from the 6-week lead-in period of the sibutramine cardiovascular outcomes trial (SCOUT). *Diabetes, obesity & metabolism* 2009;11:239-50.
66. Scheen AJ. CB1 receptor blockade and its impact on cardiometabolic risk factors: overview of the RIO programme with rimonabant. *Journal of neuroendocrinology* 2008;20 Suppl 1:139-46.
67. Rosenstock J, Hollander P, Chevalier S, Iranmanesh A, Group SS. SERENADE: the Study Evaluating Rimonabant Efficacy in Drug-naive Diabetic Patients: effects of monotherapy with rimonabant, the first selective CB1 receptor antagonist, on glycemic control, body weight, and lipid profile in drug-naive type 2 diabetes. *Diabetes care* 2008;31:2169-76.
68. Padwal RS, Majumdar SR. Drug treatments for obesity: orlistat, sibutramine, and rimonabant. *Lancet* 2007;369:71-7.
69. Benaiges D, Flores-Le-Roux JA, Pedro-Botet J, et al. Impact of restrictive (sleeve gastrectomy) vs hybrid bariatric surgery (Roux-en-Y gastric bypass) on lipid profile. *Obes Surg* 2012;22:1268-75.
70. Jimenez A, Casamitjana R, Flores L, et al. Long-term effects of sleeve gastrectomy and Roux-en-Y gastric bypass surgery on type 2 diabetes mellitus in morbidly obese subjects. *Ann Surg* 2012;256:1023-9.
71. Sjostrom L, Narbro K, Sjostrom CD, et al. Effects of bariatric surgery on mortality in Swedish obese subjects. *The New England journal of medicine* 2007;357:741-52.
72. Brunault P, Jacobi D, Leger J, et al. Observations regarding 'quality of life' and 'comfort with food' after bariatric surgery: comparison between laparoscopic adjustable gastric banding and sleeve gastrectomy. *Obes Surg* 2011;21:1225-31.
73. de la Matta-Martin M, Acosta-Martinez J, Morales-Conde S, Herrera-Gonzalez A. Perioperative morbi-mortality associated with bariatric surgery: from systematic biliopancreatic diversion to a tailored laparoscopic gastric bypass or sleeve gastrectomy approach. *Obes Surg* 2012;22:1001-7.

74. Scopinaro N, Gianetta E, Pandolfo N, Anfossi A, Berretti B, Bachi V. [Bilio-pancreatic bypass. Proposal and preliminary experimental study of a new type of operation for the functional surgical treatment of obesity]. *Minerva chirurgica* 1976;31:560-6.
75. Scopinaro N, Gianetta E, Adami GF, et al. Biliopancreatic diversion for obesity at eighteen years. *Surgery* 1996;119:261-8.
76. Baltasar A, Bou R, Miro J, Bengochea M, Serra C, Perez N. Laparoscopic biliopancreatic diversion with duodenal switch: technique and initial experience. *Obes Surg* 2002;12:245-8.
77. Feng JJ, Gagner M. Laparoscopic biliopancreatic diversion with duodenal switch. *Seminars in laparoscopic surgery* 2002;9:125-9.
78. Langer FB, Reza Hoda MA, Bohdjalian A, et al. Sleeve gastrectomy and gastric banding: effects on plasma ghrelin levels. *Obes Surg* 2005;15:1024-9.
79. Himpens J, Dapri G, Cadiere GB. A prospective randomized study between laparoscopic gastric banding and laparoscopic isolated sleeve gastrectomy: results after 1 and 3 years. *Obes Surg* 2006;16:1450-6.
80. Melissas J, Koukouraki S, Askoxylakis J, et al. Sleeve gastrectomy: a restrictive procedure? *Obes Surg* 2007;17:57-62.
81. Kawauchi H, Kawazoe I, Tsubokawa M, Kishida M, Baker BI. Characterization of melanin-concentrating hormone in chum salmon pituitaries. *Nature* 1983;305:321-3.
82. Baker BI. Melanin concentrating hormone. Boca Raton, Florida: CRC Press; 1988.
83. Baker BI. Melanin-concentrating hormone: a general vertebrate neuropeptide. *International review of cytology* 1991;126:1-47.
84. Baker BI, Bird DJ, Buckingham JC. Salmonid melanin-concentrating hormone inhibits corticotrophin release. *J Endocrinol* 1985;106:R5-8.
85. Fellmann D, Bugnon C, Risold PY. Unrelated peptide immunoreactivities coexist in neurons of the rat lateral dorsal hypothalamus: human growth hormone-releasing factor1-37-, salmon melanin-concentrating hormone- and alpha-melanotropin-like substances. *Neuroscience letters* 1987;74:275-80.
86. Nahon JL, Presse F, Bittencourt JC, Sawchenko PE, Vale W. The rat melanin-concentrating hormone messenger ribonucleic acid encodes multiple putative neuropeptides coexpressed in the dorsolateral hypothalamus. *Endocrinology* 1989;125:2056-65.
87. Zamir N, Skofitsch G, Bannon MJ, Jacobowitz DM. Melanin-concentrating hormone: unique peptide neuronal system in the rat brain and pituitary gland. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1986;83:1528-31.

88. Diencephalon. In: *Neuroanatomy for the Neuroscientist*: Springer US; 2008:147-64.
89. Pissios P, Maratos-Flier E. Melanin-concentrating hormone: from fish skin to skinny mammals. *Trends in endocrinology and metabolism*: TEM 2003;14:243-8.
90. Skofitsch G, Jacobowitz DM, Zamir N. Immunohistochemical localization of a melanin concentrating hormone-like peptide in the rat brain. *Brain research bulletin* 1985;15:635-49.
91. Vaughan JM, Fischer WH, Hoeger C, Rivier J, Vale W. Characterization of melanin-concentrating hormone from rat hypothalamus. *Endocrinology* 1989;125:1660-5.
92. Bittencourt JC, Presse F, Arias C, et al. The melanin-concentrating hormone system of the rat brain: an immuno- and hybridization histochemical characterization. *The Journal of comparative neurology* 1992;319:218-45.
93. Parkes D, Vale W. Secretion of melanin-concentrating hormone and neuropeptide-EI from cultured rat hypothalamic cells. *Endocrinology* 1992;131:1826-31.
94. Luiten PG, ter Horst GJ, Steffens AB. The hypothalamus, intrinsic connections and outflow pathways to the endocrine system in relation to the control of feeding and metabolism. *Progress in neurobiology* 1987;28:1-54.
95. Nieuwenhuys R, Geeraedts LM, Veening JG. The medial forebrain bundle of the rat. I. General introduction. *The Journal of comparative neurology* 1982;206:49-81.
96. Veening JG, Swanson LW, Cowan WM, Nieuwenhuys R, Geeraedts LM. The medial forebrain bundle of the rat. II. An autoradiographic study of the topography of the major descending and ascending components. *The Journal of comparative neurology* 1982;206:82-108.
97. Presse F, Nahon JL, Fischer WH, Vale W. Structure of the human melanin concentrating hormone mRNA. *Molecular endocrinology* 1990;4:632-7.
98. Nahon JL, Presse F, Breton C, Hervieu G, Schorpp M. Structure and regulation of the melanin-concentrating hormone gene. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1993;680:111-29.
99. Hoogduijn MJ, Ancans J, Suzuki I, Estdale S, Thody AJ. Melanin-concentrating hormone and its receptor are expressed and functional in human skin. *Biochemical and biophysical research communications* 2002;296:698-701.
100. Rossi M, Choi SJ, O'Shea D, Miyoshi T, Ghatei MA, Bloom SR. Melanin-concentrating hormone acutely stimulates feeding, but chronic administration has no effect on body weight. *Endocrinology* 1997;138:351-5.

101. Qu D, Ludwig DS, Gammeltoft S, et al. A role for melanin-concentrating hormone in the central regulation of feeding behaviour. *Nature* 1996;380:243-7.
102. Knockout Mice. In: NHGRI-85349.JPG, ed.: *Lexicon Genetics: A knockout mouse (left) that is a model of obesity, compared with a normal mouse.*
103. Ludwig DS, Tritos NA, Mastaitis JW, et al. Melanin-concentrating hormone overexpression in transgenic mice leads to obesity and insulin resistance. *The Journal of clinical investigation* 2001;107:379-86.
104. Bachner D, Kreienkamp H, Weise C, Buck F, Richter D. Identification of melanin concentrating hormone (MCH) as the natural ligand for the orphan somatostatin-like receptor 1 (SLC-1). *FEBS letters* 1999;457:522-4.
105. Chambers J, Ames RS, Bergsma D, et al. Melanin-concentrating hormone is the cognate ligand for the orphan G-protein-coupled receptor SLC-1. *Nature* 1999;400:261-5.
106. Lembo PM, Grazzini E, Cao J, et al. The receptor for the orexigenic peptide melanin-concentrating hormone is a G-protein-coupled receptor. *Nature cell biology* 1999;1:267-71.
107. Saito Y, Nothacker HP, Wang Z, Lin SH, Leslie F, Civelli O. Molecular characterization of the melanin-concentrating-hormone receptor. *Nature* 1999;400:265-9.
108. Shimomura Y, Mori M, Sugo T, et al. Isolation and identification of melanin-concentrating hormone as the endogenous ligand of the SLC-1 receptor. *Biochemical and biophysical research communications* 1999;261:622-6.
109. Saito Y, Cheng M, Leslie FM, Civelli O. Expression of the melanin-concentrating hormone (MCH) receptor mRNA in the rat brain. *The Journal of comparative neurology* 2001;435:26-40.
110. Kolakowski LF, Jr., Jung BP, Nguyen T, et al. Characterization of a human gene related to genes encoding somatostatin receptors. *FEBS letters* 1996;398:253-8.
111. Hawes BE, Kil E, Green B, O'Neill K, Fried S, Graziano MP. The melanin-concentrating hormone receptor couples to multiple G proteins to activate diverse intracellular signaling pathways. *Endocrinology* 2000;141:4524-32.
112. Curtis J, Finkbeiner S. Sending signals from the synapse to the nucleus: possible roles for CaMK, Ras/ERK, and SAPK pathways in the regulation of synaptic plasticity and neuronal growth. *Journal of neuroscience research* 1999;58:88-95.
113. Drews J. Drug discovery: a historical perspective. *Science* 2000;287:1960-4.
114. Klabunde T, Hessler G. Drug design strategies for targeting G-protein-coupled receptors. *Chembiochem : a European journal of chemical biology* 2002;3:928-44.

115. Rolland C, Gozalbes R, Nicolai E, et al. G-protein-coupled receptor affinity prediction based on the use of a profiling dataset: QSAR design, synthesis, and experimental validation. *J Med Chem* 2005;48:6563-74.
116. Wettschureck N, Offermanns S. Mammalian G Proteins and Their Cell Type Specific Functions. *Physiological reviews* 2005;85:1159-204.
117. Franke F. Funktionelle Untersuchungen an den MCH-Rezeptor 1 interagierenden Proteinen MIZIP und Neurochondrin. In; 2005:9 ff.
118. Gao XB, van den Pol AN. Melanin-concentrating hormone depresses L-, N-, and P/Q-type voltage-dependent calcium channels in rat lateral hypothalamic neurons. *The Journal of physiology* 2002;542:273-86.
119. Hervieu GJ, Cluderay JE, Harrison D, et al. The distribution of the mRNA and protein products of the melanin-concentrating hormone (MCH) receptor gene, *slc-1*, in the central nervous system of the rat. *The European journal of neuroscience* 2000;12:1194-216.
120. Stellar E. The physiology of motivation. *Psychological review* 1954;61:5-22.
121. Kokkotou EG, Tritos NA, Mastaitis JW, Slieker L, Maratos-Flier E. Melanin-concentrating hormone receptor is a target of leptin action in the mouse brain. *Endocrinology* 2001;142:680-6.
122. Marsh DJ, Weingarh DT, Novi DE, et al. Melanin-concentrating hormone 1 receptor-deficient mice are lean, hyperactive, and hyperphagic and have altered metabolism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2002;99:3240-5.
123. An S, Cutler G, Zhao JJ, et al. Identification and characterization of a melanin-concentrating hormone receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2001;98:7576-81.
124. Sailer AW, Sano H, Zeng Z, et al. Identification and characterization of a second melanin-concentrating hormone receptor, MCH-2R. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2001;98:7564-9.
125. Rodriguez M, Beauverger P, Naime I, et al. Cloning and molecular characterization of the novel human melanin-concentrating hormone receptor MCH2. *Molecular pharmacology* 2001;60:632-9.
126. Mori M, Harada M, Terao Y, et al. Cloning of a novel G protein-coupled receptor, SLT, a subtype of the melanin-concentrating hormone receptor. *Biochemical and biophysical research communications* 2001;283:1013-8.
127. Wang S, Behan J, O'Neill K, et al. Identification and pharmacological characterization of a novel human melanin-concentrating hormone receptor, *mch-r2*. *The Journal of biological chemistry* 2001;276:34664-70.

128. Hill J, Duckworth M, Murdock P, et al. Molecular cloning and functional characterization of MCH2, a novel human MCH receptor. *The Journal of biological chemistry* 2001;276:20125-9.
129. Tan CP, Sano H, Iwaasa H, et al. Melanin-concentrating hormone receptor subtypes 1 and 2: species-specific gene expression. *Genomics* 2002;79:785-92.
130. Guex N, Peitsch MC. SWISS-MODEL and the Swiss-PdbViewer: an environment for comparative protein modeling. *Electrophoresis* 1997;18:2714-23.
131. Cheon HG. Antiobesity effects of melanin-concentrating hormone receptor 1 (MCH-R1) antagonists. *Handb Exp Pharmacol* 2012;209:383-403.
132. Verret L, Goutagny R, Fort P, et al. A role of melanin-concentrating hormone producing neurons in the central regulation of paradoxical sleep. *BMC neuroscience* 2003;4:19.
133. Borowsky B, Durkin MM, Ogozalek K, et al. Antidepressant, anxiolytic and anorectic effects of a melanin-concentrating hormone-1 receptor antagonist. *Nat Med* 2002;8:825-30.
134. Chung S, Parks GS, Lee C, Civelli O. Recent updates on the melanin-concentrating hormone (MCH) and its receptor system: lessons from MCH1R antagonists. *Journal of molecular neuroscience : MN* 2011;43:115-21.
135. Audinot V, Beauverger P, Lahaye C, et al. Structure-activity relationship studies of melanin-concentrating hormone (MCH)-related peptide ligands at SLC-1, the human MCH receptor. *The Journal of biological chemistry* 2001;276:13554-62.
136. Bednarek MA, Feighner SD, Hreniuk DL, et al. Short segment of human melanin-concentrating hormone that is sufficient for full activation of human melanin-concentrating hormone receptors 1 and 2. *Biochemistry* 2001;40:9379-86.
137. Takekawa S, Asami A, Ishihara Y, et al. T-226296: a novel, orally active and selective melanin-concentrating hormone receptor antagonist. *European journal of pharmacology* 2002;438:129-35.
138. Kanuma K, Omodera K, Nishiguchi M, et al. Identification of 4-amino-2-cyclohexylaminoquinazolines as metabolically stable melanin-concentrating hormone receptor 1 antagonists. *Bioorganic & medicinal chemistry* 2006;14:3307-19.
139. Basso AM, Bratcher NA, Gallagher KB, et al. Lack of efficacy of melanin-concentrating hormone-1 receptor antagonists in models of depression and anxiety. *European journal of pharmacology* 2006;540:115-20.
140. Receveur JM, Bjurling E, Ulven T, Little PB, Norregaard PK, Hogberg T. 4-Acylamino- and 4-ureidobenzamides as melanin-concentrating hormone (MCH) receptor 1 antagonists. *Bioorg Med Chem Lett* 2004;14:5075-80.

141. Clark DE, Higgs C, Wren SP, et al. A virtual screening approach to finding novel and potent antagonists at the melanin-concentrating hormone 1 receptor. *J Med Chem* 2004;47:3962-71.
142. Carpenter AJ, Al-Barazanji KA, Barvian KK, et al. Novel benzimidazole-based MCH R1 antagonists. *Bioorg Med Chem Lett* 2006;16:4994-5000.
143. Mihalic JT, Fan P, Chen X, et al. Discovery of a novel melanin concentrating hormone receptor 1 (MCHR1) antagonist with reduced hERG inhibition. *Bioorg Med Chem Lett* 2012;22:3781-5.
144. Witkamp RF. Current and future drug targets in weight management. *Pharmaceutical research* 2011;28:1792-818.
145. Valentino MA, Lin JE, Waldman SA. Central and peripheral molecular targets for antiobesity pharmacotherapy. *Clinical pharmacology and therapeutics* 2010;87:652-62.
146. Luthin DR. Anti-obesity effects of small molecule melanin-concentrating hormone receptor 1 (MCHR1) antagonists. *Life sciences* 2007;81:423-40.
147. Harris RB, Kasser TR, Martin RJ. Dynamics of recovery of body composition after overfeeding, food restriction or starvation of mature female rats. *The Journal of nutrition* 1986;116:2536-46.
148. Mercer JG, Speakman JR. Hypothalamic neuropeptide mechanisms for regulating energy balance: from rodent models to human obesity. *Neuroscience and biobehavioral reviews* 2001;25:101-16.
149. Wilding JP. Neuropeptides and appetite control. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association* 2002;19:619-27.
150. Nüsken KD, Jarz H. Steuerung von Appetit, Hunger und Sättigung. In: Ledochowski M, ed. *Klinische Ernährungsmedizin*: Springer Vienna; 2010:33-45.
151. Teitelbaum P, Stellar E. Recovery from the failure to eat produced by hypothalamic lesions. *Science* 1954;120:894-5.
152. Bernardis LL, Bellinger LL. The lateral hypothalamic area revisited: ingestive behavior. *Neuroscience and biobehavioral reviews* 1996;20:189-287.
153. Satoh N, Ogawa Y, Katsuura G, et al. Pathophysiological significance of the obese gene product, leptin, in ventromedial hypothalamus (VMH)-lesioned rats: evidence for loss of its satiety effect in VMH-lesioned rats. *Endocrinology* 1997;138:947-54.
154. Schwartz MW, Woods SC, Porte D, Jr., Seeley RJ, Baskin DG. Central nervous system control of food intake. *Nature* 2000;404:661-71.
155. Duvernoy HM, Risold PY. The circumventricular organs: an atlas of comparative anatomy and vascularization. *Brain research reviews* 2007;56:119-47.

156. Mercer JG, Moar KM, Rayner DV, Trayhurn P, Hoggard N. Regulation of leptin receptor and NPY gene expression in hypothalamus of leptin-treated obese (ob/ob) and cold-exposed lean mice. *FEBS letters* 1997;402:185-8.
157. Nicolaidis S, Even PC. The ischymetric control of feeding. *Int J Obes* 1990;14 Suppl 3:35-49; discussion 50-2.
158. Sakurai T. Orexin: a link between energy homeostasis and adaptive behaviour. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care* 2003;6:353-60.
159. Sawchenko PE, Swanson LW, Steinbusch HW, Verhofstad AA. The distribution and cells of origin of serotonergic inputs to the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat. *Brain research* 1983;277:355-60.
160. Larhammar D, Blomqvist AG, Yee F, Jazin E, Yoo H, Wahlested C. Cloning and functional expression of a human neuropeptide Y/peptide YY receptor of the Y1 type. *The Journal of biological chemistry* 1992;267:10935-8.
161. Jobst EE, Enriori PJ, Sinnayah P, Cowley MA. Hypothalamic regulatory pathways and potential obesity treatment targets. *Endocrine* 2006;29:33-48.
162. Elmquist JK, Ahima RS, Elias CF, Flier JS, Saper CB. Leptin activates distinct projections from the dorsomedial and ventromedial hypothalamic nuclei. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1998;95:741-6.
163. Smedh U, Hakansson ML, Meister B, Uvnas-Moberg K. Leptin injected into the fourth ventricle inhibits gastric emptying. *Neuroreport* 1998;9:297-301.
164. Moran TH, Kinzig KP. Gastrointestinal satiety signals II. Cholecystokinin. *American journal of physiology Gastrointestinal and liver physiology* 2004;286:G183-8.
165. Woods SC, Seeley RJ, Porte D, Jr., Schwartz MW. Signals that regulate food intake and energy homeostasis. *Science* 1998;280:1378-83.
166. Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS, Schmidova K, Wisse BE, Weigle DS. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes* 2001;50:1714-9.
167. Kojima M, Kangawa K. Ghrelin: structure and function. *Physiological reviews* 2005;85:495-522.
168. Geary N. Endocrine controls of eating: CCK, leptin, and ghrelin. *Physiology & behavior* 2004;81:719-33.
169. Hagemann D, Meier JJ, Gallwitz B, Schmidt WE. [Appetite regulation by ghrelin - a novel neuro-endocrine gastric peptide hormone in the gut-brain-axis]. *Zeitschrift fur Gastroenterologie* 2003;41:929-36.
170. Caixas A, Bashore C, Nash W, Pi-Sunyer F, Laferrere B. Insulin, unlike food intake, does not suppress ghrelin in human subjects. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2002;87:1902.

171. Stanley S, Wynne K, Bloom S. Gastrointestinal satiety signals III. Glucagon-like peptide 1, oxyntomodulin, peptide YY, and pancreatic polypeptide. *American journal of physiology Gastrointestinal and liver physiology* 2004;286:G693-7.
172. Potter EK, Barden JA, McCloskey MJ, et al. A novel neuropeptide Y analog, N-acetyl [Leu28,Leu31]neuropeptide Y-(24-36), with functional specificity for the presynaptic (Y2) receptor. *European journal of pharmacology* 1994;267:253-62.
173. Batterham RL, Cowley MA, Small CJ, et al. Gut hormone PYY(3-36) physiologically inhibits food intake. *Nature* 2002;418:650-4.
174. Batterham RL, Cohen MA, Ellis SM, et al. Inhibition of food intake in obese subjects by peptide YY3-36. *The New England journal of medicine* 2003;349:941-8.
175. Ellacott KL, Cone RD. The central melanocortin system and the integration of short- and long-term regulators of energy homeostasis. *Recent progress in hormone research* 2004;59:395-408.
176. Huszar D, Lynch CA, Fairchild-Huntress V, et al. Targeted disruption of the melanocortin-4 receptor results in obesity in mice. *Cell* 1997;88:131-41.
177. Morton GJ, Schwartz MW. The NPY/AgRP neuron and energy homeostasis. *International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity* 2001;25 Suppl 5:S56-62.
178. Cooke D, Bloom S. The obesity pipeline: current strategies in the development of anti-obesity drugs. *Nature reviews Drug discovery* 2006;5:919-31.
179. Lu D, Willard D, Patel IR, et al. Agouti protein is an antagonist of the melanocyte-stimulating-hormone receptor. *Nature* 1994;371:799-802.
180. Date Y, Ueta Y, Yamashita H, et al. Orexins, orexigenic hypothalamic peptides, interact with autonomic, neuroendocrine and neuroregulatory systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1999;96:748-53.
181. Pietrzyk U, Herholz K, Fink G, et al. An interactive technique for three-dimensional image registration: validation for PET, SPECT, MRI and CT brain studies. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine* 1994;35:2011-8.
182. Saha GB. *Fundamentals of Nuclear Pharmacy*: Springer New York; 2010.
183. Namdar M, Hany TF, Koepfli P, et al. Integrated PET/CT for the assessment of coronary artery disease: a feasibility study. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine* 2005;46:930-5.
184. Saha GB. *Physics and Radiobiology of Nuclear Medicine*: Springer-Verlag GmbH; 2001.

185. Cabello J, Gillam JE, Rafecas M. High Performance 3D PET Reconstruction Using Spherical Basis Functions on a Polar Grid. *International journal of biomedical imaging* 2012;2012:452910.
186. Gravel P, Verhaeghe J, Reader AJ. 3D PET image reconstruction including both motion correction and registration directly into an MR or stereotaxic spatial atlas. *Physics in medicine and biology* 2013;58:105-26.
187. Peng MJ, Ju X, Khambay BS, Ayoub AF, Chen CT, Bai B. Clinical significance of creative 3D-image fusion across multimodalities [PET+CT+MR] based on characteristic coregistration. *European journal of radiology* 2012;81:e406-13.
188. Beyer T, Townsend DW, Brun T, et al. A combined PET/CT scanner for clinical oncology. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine* 2000;41:1369-79.
189. Kobe C, Schmidt M, Kracht L, Dietlein M, Schicha H. PET in der Onkologie. *best practice onkologie* 2007;2:22-32.
190. Gok B, Jallo G, Hayeri R, Wahl R, Aygun N. The evaluation of FDG-PET imaging for epileptogenic focus localization in patients with MRI positive and MRI negative temporal lobe epilepsy. *Neuroradiology* 2012.
191. Cherry SR, Sorensen JA, Phelps ME. *Physics in Nuclear Medicine*. 3rd ed. Philadelphia: Saunders; 2003.
192. Hendee WR, Ritenour ER. *Medical Imaging Physics*: Wiley; 2003.
193. Bushberg JT. *The Essential Physics of Medical Imaging*, 2e: Williams & Wilkins; 2002.
194. Friedlander G, Kennedy JW, Macias ES, Miller JM. *Nuclear and Radiochemistry*. 3rd ed. New York: Wiley; 1981.
195. Harbert JC, Eckelman WC, Neumann RD. *Nuclear Medicine: Diagnosis and Therapy*: Thieme Georg Verlag; 1996.
196. Wilbur DS, Hadley SW, Hylarides MD, et al. Development of a stable radioiodinating reagent to label monoclonal antibodies for radiotherapy of cancer. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine* 1989;30:216-26.
197. Dewanjee MK. The chemistry of <sup>99m</sup>Tc-labeled radiopharmaceuticals. *Seminars in nuclear medicine* 1990;20:5-27.
198. Schlyer DJ. PET tracers and radiochemistry. *Annals of the Academy of Medicine, Singapore* 2004;33:146-54.
199. Kuwert T. *Nuklearmedizin*: Thieme Georg Verlag; 2007.
200. Reivich M, Kuhl D, Wolf A, et al. The [<sup>18</sup>F]fluorodeoxyglucose method for the measurement of local cerebral glucose utilization in man. *Circulation research* 1979;44:127-37.

201. Hamacher K, Coenen HH, Stocklin G. Efficient stereospecific synthesis of no-carrier-added 2-[18F]-fluoro-2-deoxy-D-glucose using aminopolyether supported nucleophilic substitution. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine* 1986;27:235-8.
202. Ratib O, Phelps ME, Huang SC, Henze E, Selin CE, Schelbert HR. Positron tomography with deoxyglucose for estimating local myocardial glucose metabolism. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine* 1982;23:577-86.
203. Di Chiro G, DeLaPaz RL, Brooks RA, et al. Glucose utilization of cerebral gliomas measured by [18F] fluorodeoxyglucose and positron emission tomography. *Neurology* 1982;32:1323-9.
204. Schirmer E. Synthese von Precursoren und Referenzsubstanzen neuer MCH-R1, PET-Tracer. In; 2011:XI, 355 S.
205. Li AH, Moro S, Forsyth N, Melman N, Ji XD, Jacobson KA. Synthesis, CoMFA analysis, and receptor docking of 3,5-diacyl-2, 4-dialkylpyridine derivatives as selective A3 adenosine receptor antagonists. *J Med Chem* 1999;42:706-21.
206. Schönberger J. Studien zur Entwicklung neuer Leitstrukturen für die medikamentöse Adipositas therapie. In; 2006:XII, 241 S.
207. Murali Dhar TG, Nagarathnam D, Marzabadi MR, et al. Design and synthesis of novel alpha(1)(a) adrenoceptor-selective antagonists. 2. Approaches to eliminate opioid agonist metabolites via modification of linker and 4-methoxycarbonyl-4-phenylpiperidine moiety. *J Med Chem* 1999;42:4778-93.
208. Beichl J. Studien zur Herstellung einer neuen Vorstufe eines MCH 1 -Rezeptor-Antagonisten für PET-diagnostische Zwecke. In; 2010:64 S., [ca. 10] Bl.
209. Smith AB, Empfield JR, Rivero RA, Vaccaro HA, Duan JJW, Sulikowski MM. Total synthesis of (+-)-breynolide, an aglycon derivative of the orally active hypocholesterolemic agent breynin A. *Journal of the American Chemical Society* 1992;114:9419-34.
210. Gigg R, Warren CD. The allyl ether as a protecting group in carbohydrate chemistry. *Tetrahedron letters* 1967;18:1683-4.
211. Kociński PJ. *Protecting Groups*: Georg Thieme; 2005.
212. Bouzide A, LeBerre N, Sauvé G. Silver(I) oxide-mediated facile and practical sulfonation of alcohols. *Tetrahedron letters* 2001;42:8781-3.
213. Tanabe M, Peters RH. (R, S)-Mevalonolactone-2-<sup>13</sup>C. *Org Synth Coll* 1990;VII:386.
214. Radeke H, Hanson K, Yalamanchili P, et al. Synthesis and biological evaluation of the mitochondrial complex 1 inhibitor 2-[4-(4-fluorobutyl)benzylsulfanyl]-3-methylchromene-4-one as a potential cardiac positron emission tomography tracer. *J Med Chem* 2007;50:4304-15.



## 5 ANHANG



## 5.1 Abkürzungen

Abb.	Abbildung
abs.	absolut
AC	Adenylatcyclase
AcCl	Acetylchlorid
ACN	Acetonitril
AgNO <sub>3</sub>	Silbernitrat
Ag <sub>2</sub> O	Silber(I)oxid
AgRP	Agouti-related peptide
ALOE	Allyloxyethyl
Äq.	Äquivalente
ARC	Nucleus arcuatus
BF <sub>3</sub> OEt <sub>2</sub>	Bortrifluoriddiethyletherat
BMI	Body-Mass-Index
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
Bq	Becquerel
°C	Grad Celsius
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
CCK	Cholecystokinin
CDCl <sub>3</sub>	deutერიertes Chloroform
CF <sub>3</sub> COOH	Trifluoressigsäure
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Dichlormethan
CH <sub>3</sub> COOH	Essigsäure
CHO	Aldehyd
cm	Zentimeter
CO <sub>2</sub>	Kohlenstoffdioxid
CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	Carbonatanion
COCl <sub>2</sub>	Kobaltchlorid
CsF	Cäsiumfluorid

Cu <sub>2</sub> O	Kupfer(I)oxid
CuSO <sub>4</sub>	Kupfersulfat
CT	Computer-Tomographie
EDC	<i>N</i> -(3-Dimethylaminopropyl)- <i>N</i> '-ethylcarbodiimid
δ	Verschiebung
d	Deuterium
DABCO	Diazabicyclooctan
DAG	Diacylglycerin
DAST	Diethylaminoschwefeltrifluorid
DC	Dünnschichtchromatographie
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
DIPA	Diisopropylamin
4-DMAP	4-(Dimethylamino)pyridin
DMPU	1,3-Dimethyl-3,4,5,6-tetrahydro-2(1H)pyrimidinon
DMS	Dimethylsulfid
d <sub>6</sub> -DMSO	deutერიertes Dimethylsulfoxid
EI	Electron Impact
ER	Endoplasmatisches Reticulum
Et <sub>2</sub> O	Ether
EtOAc	Ethylacetat
<i>et al.</i>	<i>et alii</i>
EtOH	Ethanol
eV	Elektronenvolt
[ <sup>18</sup> F]FDG	[ <sup>18</sup> F]Fluordesoxyglukose
g	Gramm
G-Protein	Guanin-Nukleotid-bindendes Protein
GC	Gaschromatographie
Gew.-%	Gewichtsprozent
GLP	Glucagon-like Peptide
GPCR	G-Protein-Coupled Receptor
h	Stunde(n)

HCl	Salzsäure
HgCl <sub>2</sub>	Quecksilberdichlorid
HgO	Quecksilberoxid
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation experiment
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Correlation experiment
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
H <sub>2</sub> O	Wasser
HRMS	High Resolution Mass Spectrometry
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence experiment
I <sub>2</sub>	Iod
i.c.v.	intracerebroventrikulär
i.p.	intraperitoneal
IP <sub>3</sub>	Inositoltriphosphat
<i>J</i>	Kopplungskonstante
K	Kelvin
KBr	Kaliumbromid
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Kaliumcarbonat
keV	Kiloelektronenvolt
KF	Kaliumfluorid
K <sub>i</sub>	Inhibitionskonstante
KI	Kaliumiodid
kV	Kilovolt
KG	Kieselgel
l	Liter
L	Ligand
LHA	Lateral Hypothalamic Area
LiHMDS	Lithiumhexamethyldisilazid
M	molar
M <sup>+</sup>	Molekularion
μA	Mikroampere
m/z	Masse/Ladungs-Verhältnis

MAPK	Mitogen Activated Proteine Kinase
MeOH	Methanol
MeV	Megaelektronenvolt
MC	Melanocortin
MCH	Melanin-concentrating hormone
MCH-OE	MCH-overexpressing
MCHR1	MCH-Rezeptor 1
MCHR2	MCH-Rezeptor 2
mg	Milligramm
MgSO <sub>4</sub>	Magnesiumsulfat
MHz	Megahertz
min	Minute(n)
µl	Mikroliter
ml	Milliliter
µm	Mikrometer
mm	Millimeter
mmol	Millimol
MR	Magnetresonanz
mRNA	Messenger Ribonucleic Acid
MRT	Magnetresonanztomographie
MS	Massenspektrometrie
mSv	Millisievert
n	Neutron
N	normal
NaBH <sub>4</sub>	Natriumborhydrid
NaCl	Natriumchlorid; Kochsalz
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Natriumcarbonat
NaHCO <sub>3</sub>	Natriumhydrogencarbonat; Natron; Speisesoda
NaIO <sub>4</sub>	Natriumperiodat
NaOH	Natriumhydroxid
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Natriumsulfat

NH <sub>4</sub> Cl	Ammoniumchlorid
nM	nanomolar
NMR	Kernresonanzspektroskopie
NOE	Nuclear Overhauser Effect/ Enhancement
NOESY	Nuclear Overhauser Enhance-ment Spectroscopy
NPY	Neuropeptid Y
NTS	Nucleus tractus solitarii
Nu	Nukleophil
NuH	protoniertes Nukleophil
OsO <sub>4</sub>	Osmiumtetroxid
OXM	Oxyntomodulin
p	Proton
<i>p</i> -	para-
Pd/C	Palladiumkatalysator mit Aktivkohle
PdCl <sub>2</sub>	Palladiumchlorid
Pd(0)L <sub>n</sub>	Palladium(0)-Liganden-komplex
Pd(OAc) <sub>2</sub>	Palladiumacetat
PE	Petrolether; Ligroin
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
Ph	Phenyl
pH	potentia/pondus Hydrogenii
PhSMe	Thioanisol
PIP <sub>2</sub>	Phosphatidylinositolbiphosphat
PKA	Proteinkinase A
PKC	Proteinkinase C
PLC	Phospholipase C
PMB	<i>p</i> -Methoxybenzyl
POMC	Proopiomelanocortin
PP	pankreatisches Polypeptid
PPh <sub>3</sub>	Triphenylphosphin
(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> Pd	Tetrakis(triphenylphosphin)-Palladium

ppm	parts per million
PYY	Peptid YY <sub>(3-36)</sub>
PTX	Pertussistoxin
PVN	Nucleus paraventricularis
R <sub>f</sub>	Retentionsfaktor
RhCl(PPh <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	Rhodiumchloridtris(triphenylphosphin)
RP	Reversed-Phase
RT	Raumtemperatur
s, d, t, q, m	Singulett, Dublett, Triplett, Quartett, Multiplett
s	Sekunde(n)
(SLC)-1	Somatostatin-like Receptor
t-	tertiär-
t <sub>1/2</sub>	Halbwertszeit
Temp.	Temperatur
Tf <sub>2</sub> NPh	<i>N</i> -Phenylbis(trifluormethan-sulfonimid); Triflimid
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
TMS	Trimethylsilan
TMSE	Trimethylsilylethyl
TsCl	Tosylchlorid
vgl.	vergleiche
WHO	World Health Organization
WHR	Waist-Hip-Ratio
WHtR	Waist-Height-Ratio
W	Watt

## 5.2 Abkürzungen der SNAP-Derivate

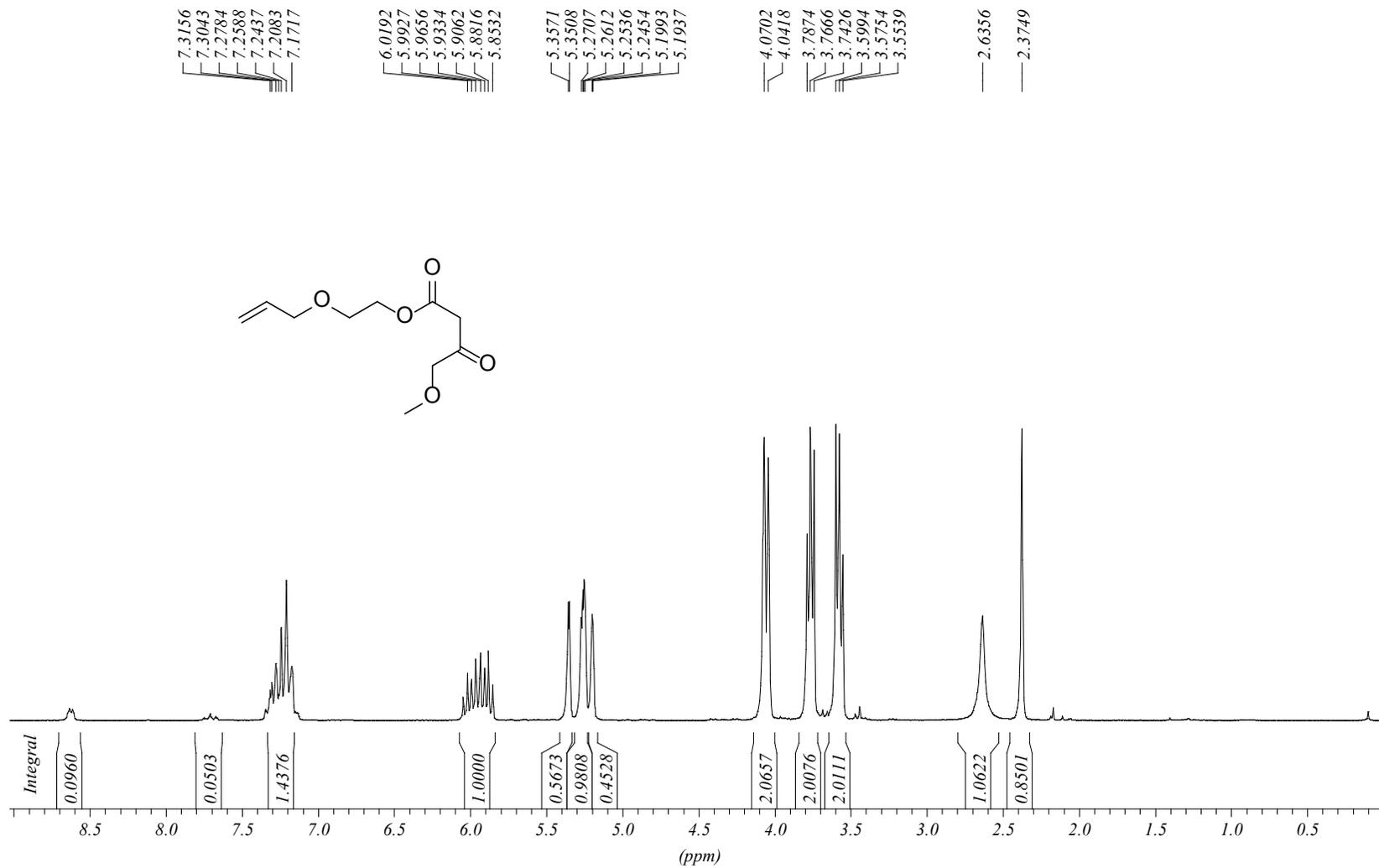
[ <sup>18</sup> F]FE@SNAP	2-[ <sup>18</sup> F]Fluorethyl-3-(3-(4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-yl)propylcarbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester
ALOE-SNAP	Allyloxyethyl-3-(3-(4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-yl)propylcarbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester
FE@SNAP	2-Fluorethyl-3-(3-(4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-yl)propylcarbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester
HE@SNAP	2-Hydroxyethyl-3-(3-(4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-yl)propylcarbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester
racSNAP-7941	Methyl-3-(3-(4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-yl)propylcarbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester
TOE@SNAP	2-(Tosyloxy)ethyl-3-(3-(4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-yl)propylcarbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester



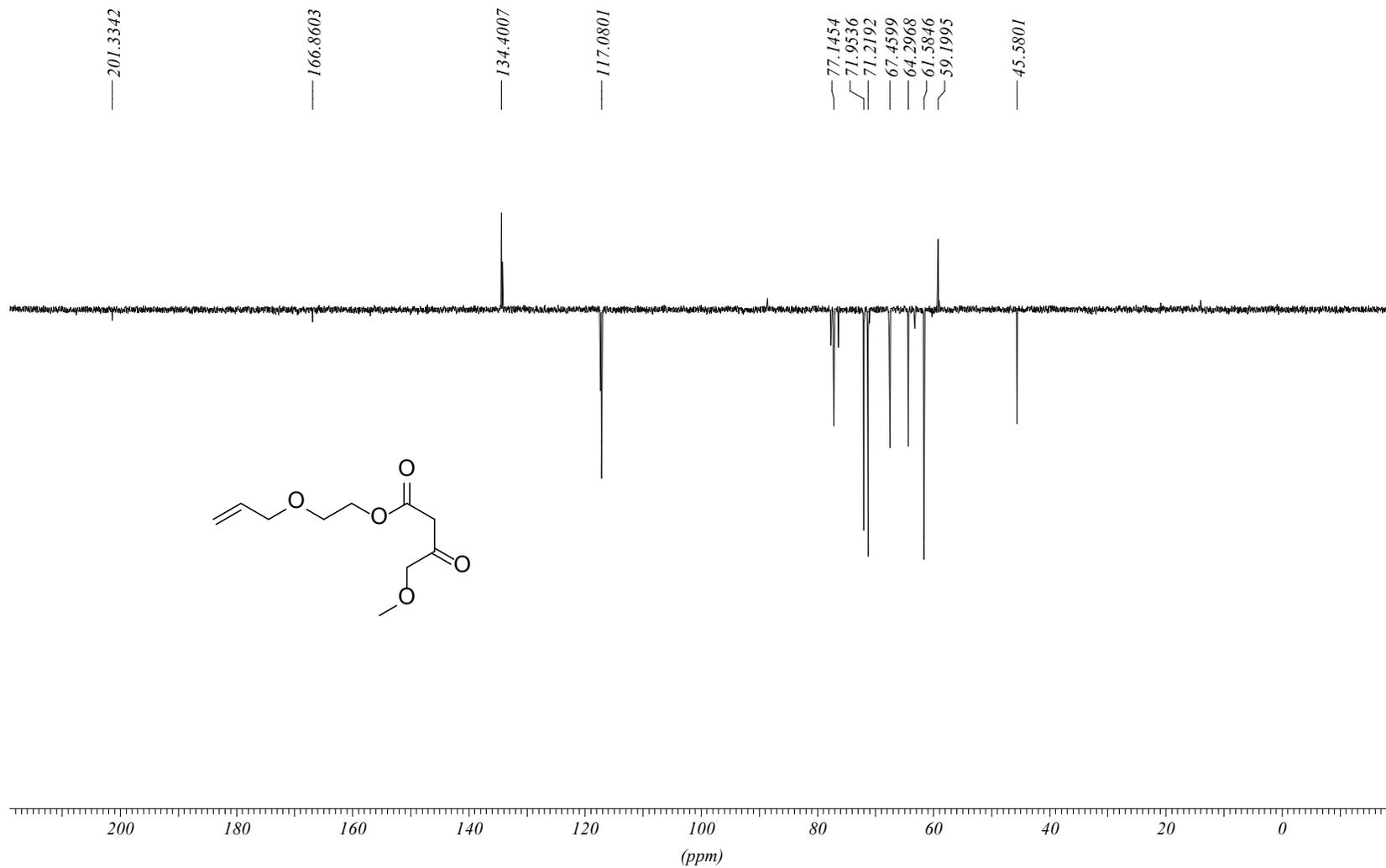
## 5.3 Spektren



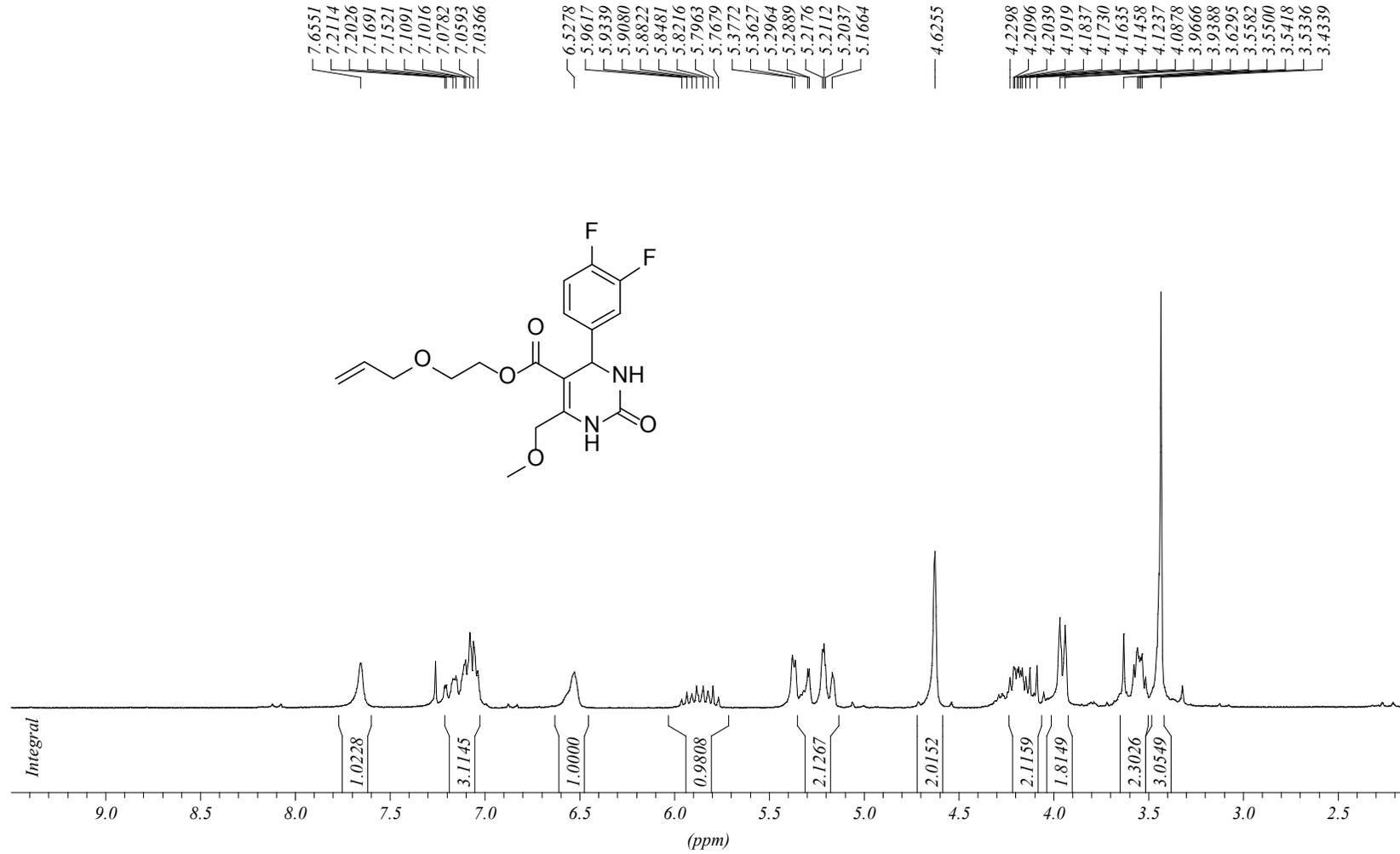
PROTON CDCl3 opt/swinnmr schirmer 8



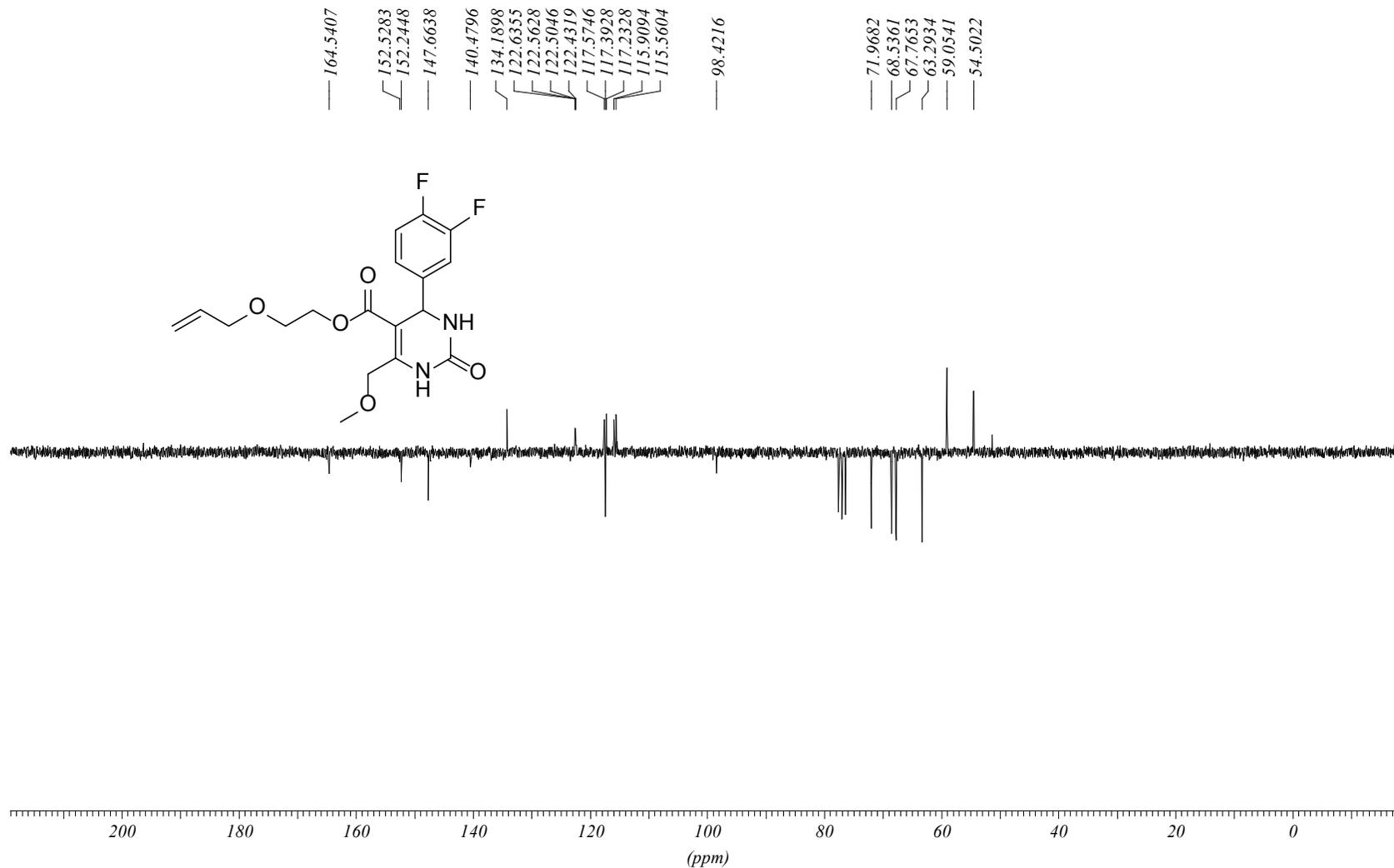
8.9.09, 11-ae3, Allyloxyethylester, ca 100 mg, CDCl<sub>3</sub> 13APT CDCl<sub>3</sub> opt/xwinmr schirmer 8



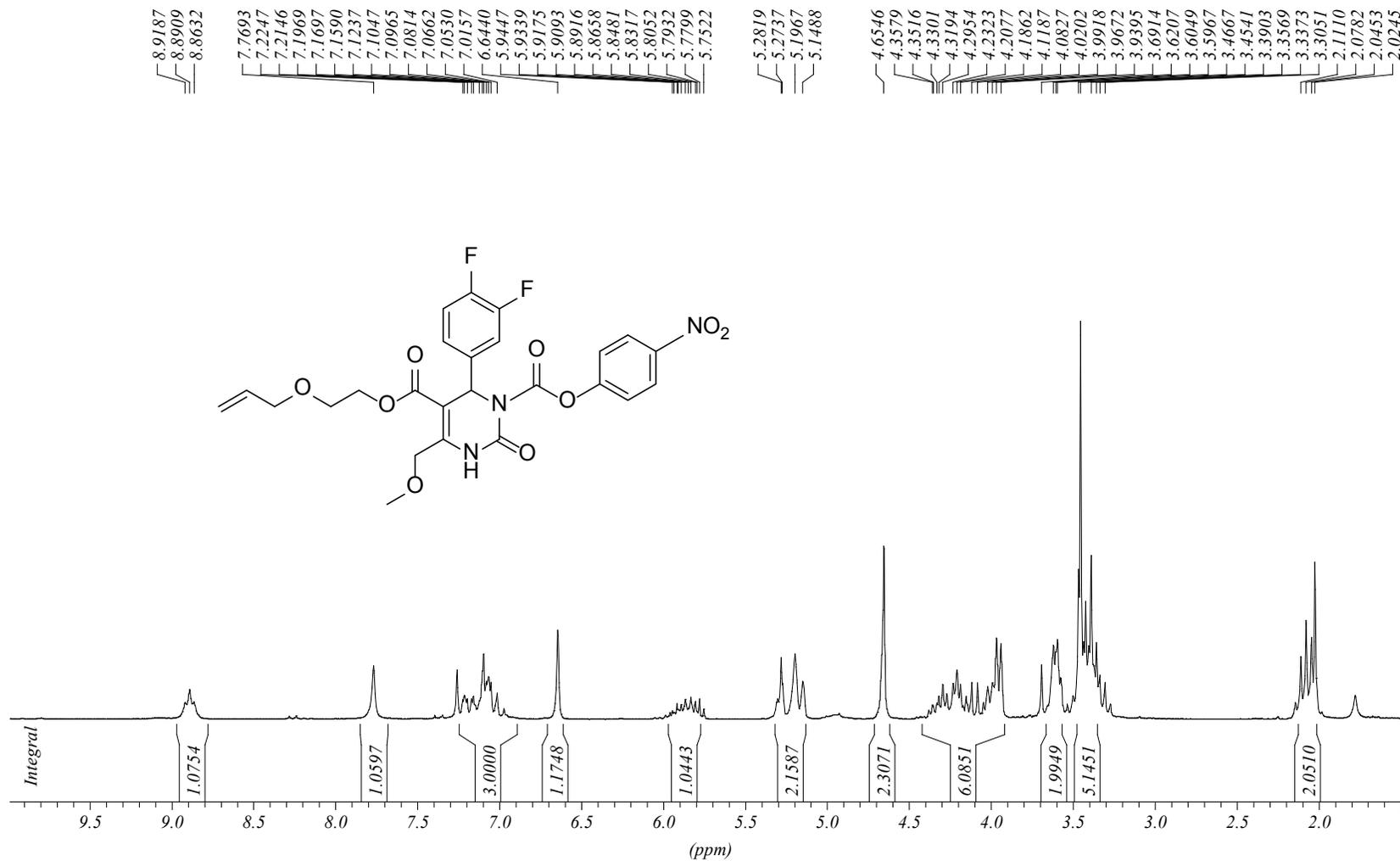
23.6.10, jb-gkp3, 2. Fraktion nach 2. Saeule, CDCl3PROTON CDCl3 opt/swinnmr schirmer 3



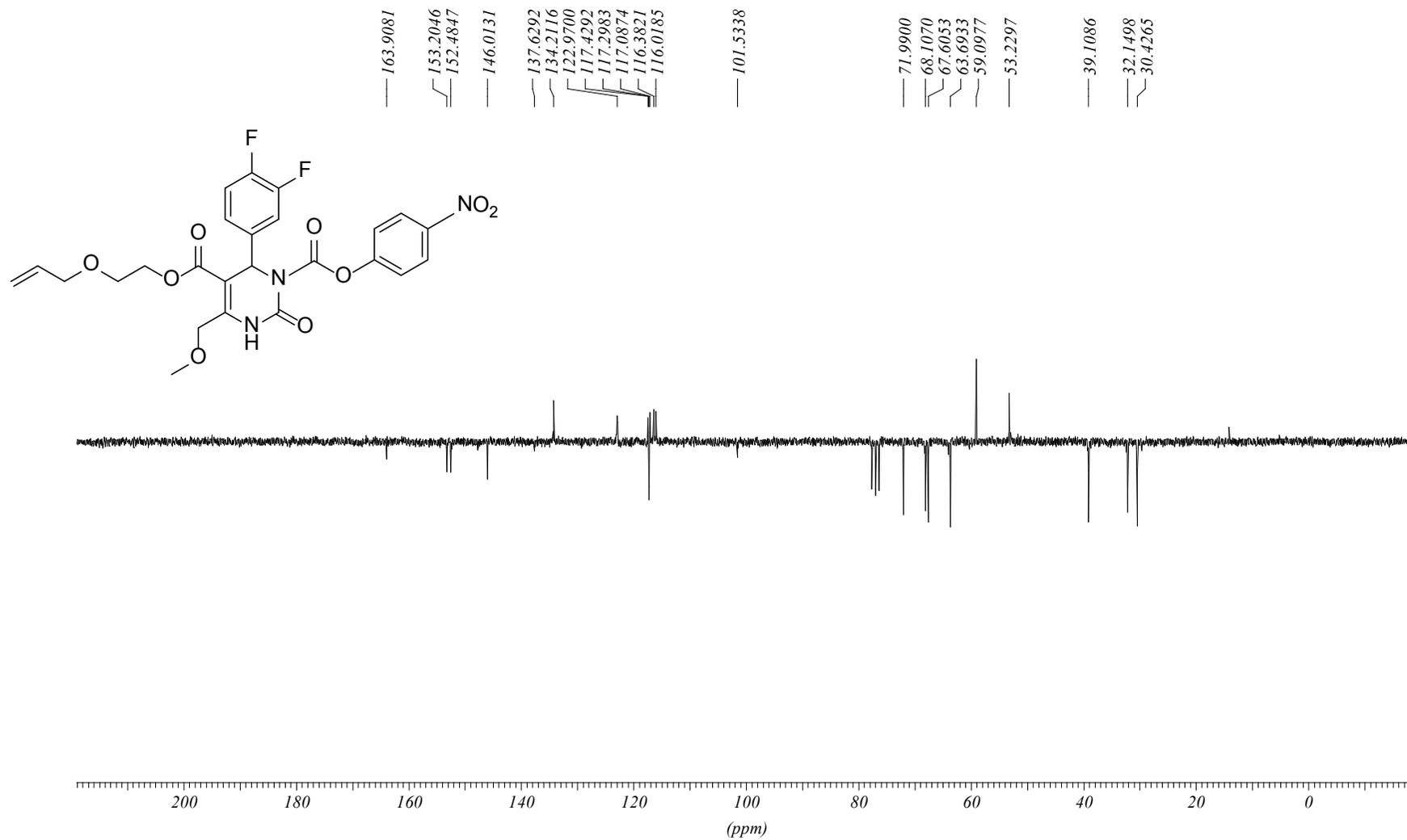
23.6.10, jb-gkp3, 2. Fraktion nach 2. Säule, CDCl<sub>3</sub>/CDCl<sub>3</sub>APT CDCl<sub>3</sub> opt/swinnmr schürmer 3□



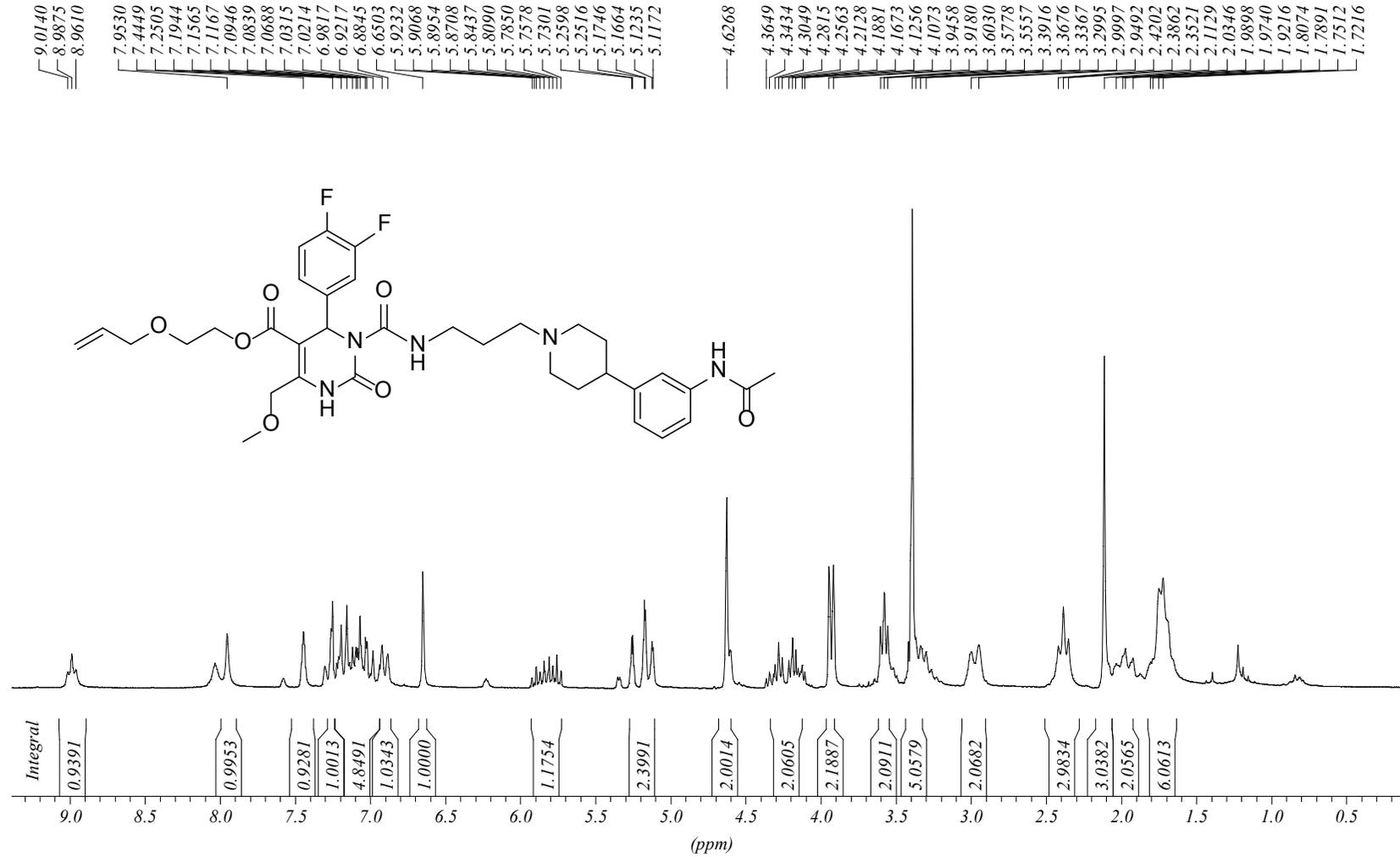
2.6.2010, jb-gkp, AE-Gkp, CDCl3PROTON CDCl3 opt/xwinmr schirmer 18



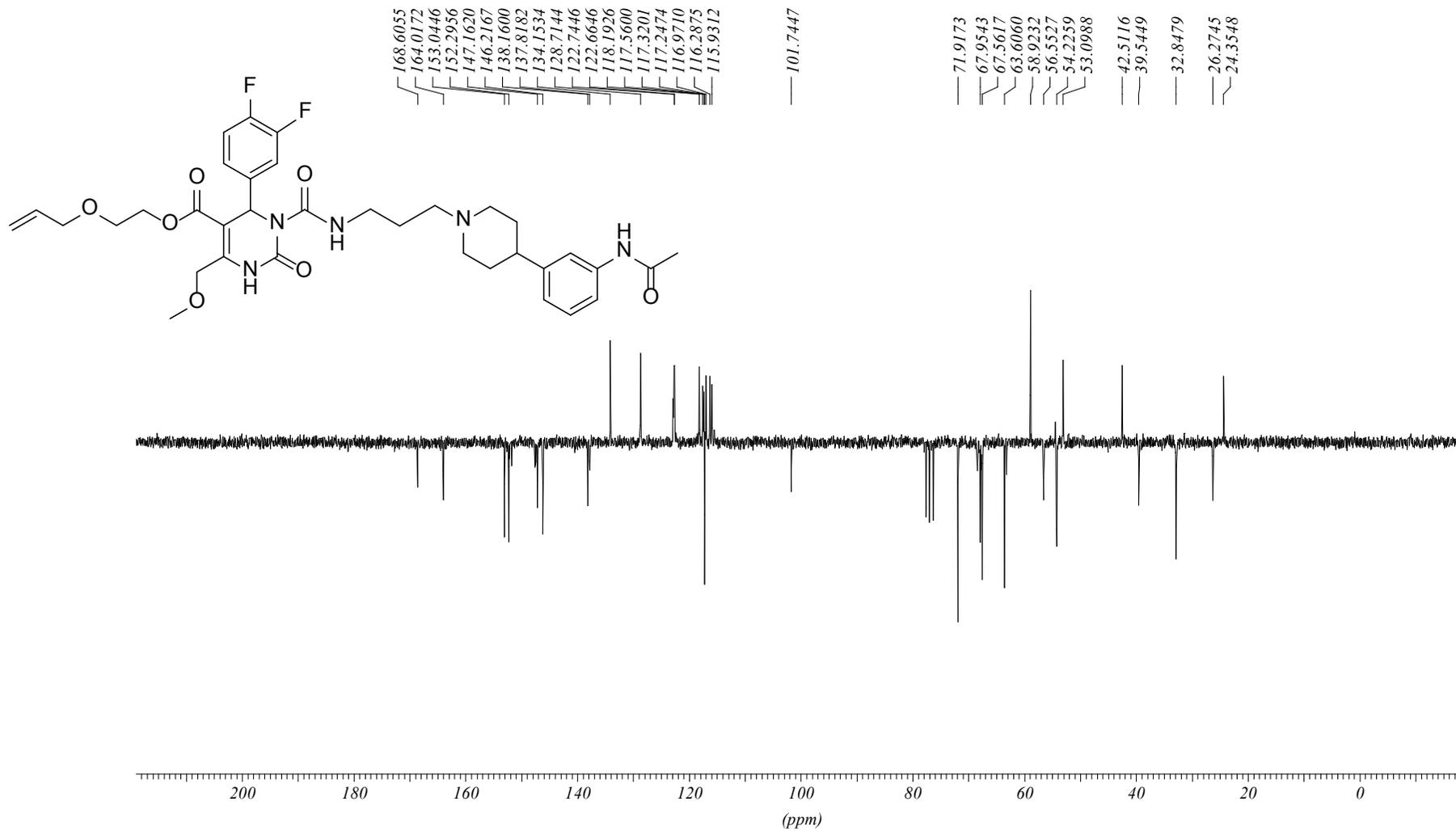
2.6.2010, jb-gkp, AE-Gkp, CDCl3/CDCl3APT CDCl3 opt/swinmmr schirmer 18□



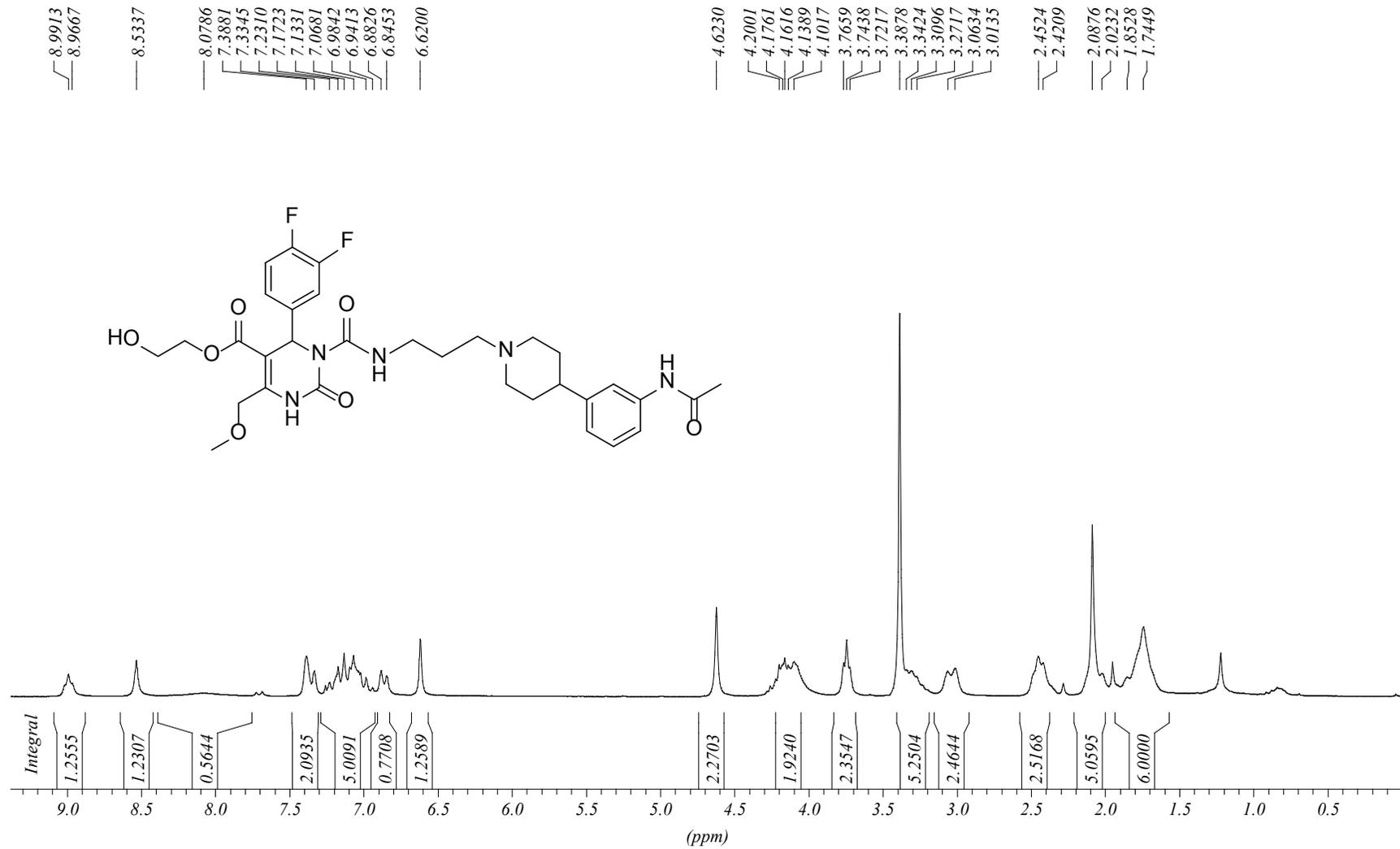
30.10.2009, 1l-aesp1, Allyloxyethyl-Snap, Fraktion C, 100 mg, CDCl3 PROTON CDCl3 opt/swimmr schürmer 35



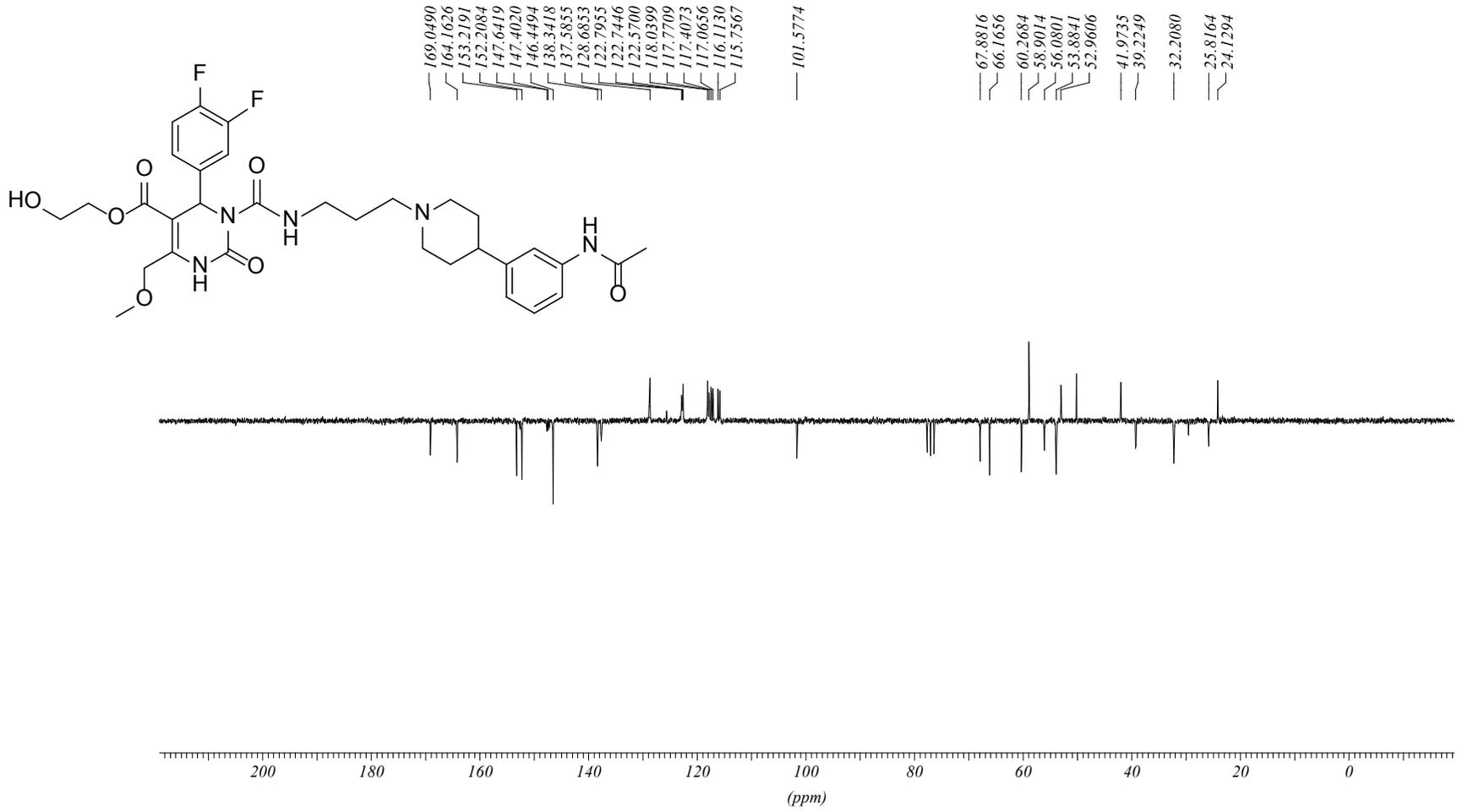
30.10.2009, II-aesp1, Allyloxyethyl-Shap, Fraktion C, 100 mg, CDCl3/CDCl3APT CDCl3 opt/swimmr schirmer 35



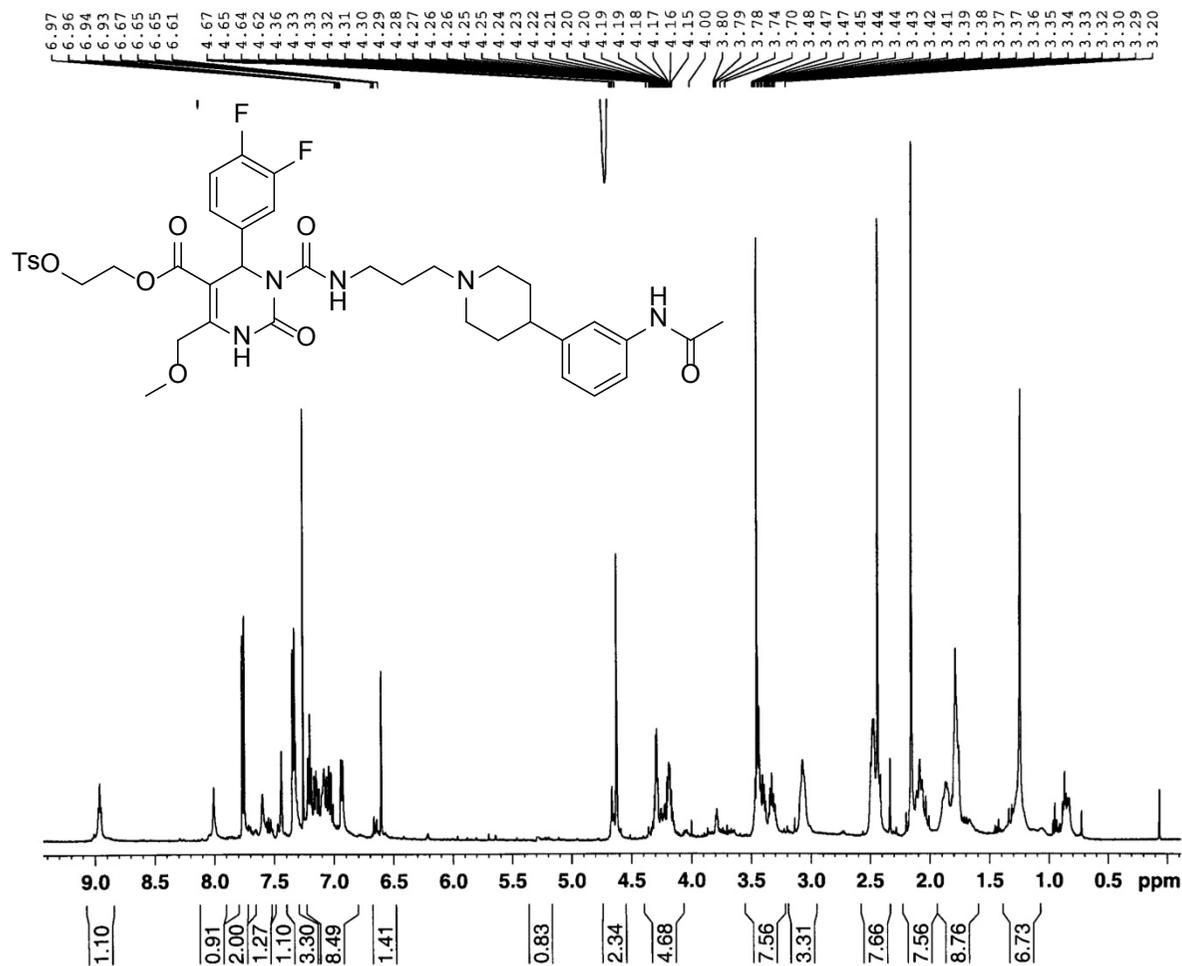
11.2.10, es-hsp11, 3. Fraktion Vinylsnap = HESp, 178 mg, CDCl3PROTON CDCl3 opt/xwimmr schirmer 35 □



11.2.10, es-hsp11, 3. Fraktion Vinylsnap = HESp, 178 mg, CDCl<sub>3</sub>/CDCl<sub>3</sub>APT CDCl<sub>3</sub> opt/xwinmr schirmer 35



Evi es-ts5f1 / CDC13



Current Data Parameters  
 NAME ES-Tos  
 EXPNO 1  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20091012  
 Time 18.14  
 INSTRUM spect  
 PROBHD 5 mm BBO BB-1H  
 PULPROG zg30  
 TD 65536  
 SOLVENT CDC13  
 NS 16  
 DS 2  
 SWH 8012.820 Hz  
 FIDRES 0.122266 Hz  
 AQ 4.0895586 sec  
 RG 90.5  
 DW 62.400 usec  
 DE 6.00 usec  
 TE 293.4 K  
 D1 5.00000000 sec  
 MCREST 0.00000000 sec  
 MCWRK 0.01500000 sec

===== CHANNEL f1 =====  
 NUC1 1H  
 P1 13.50 usec  
 PL1 0.30 dB  
 SF01 500.1337510 MHz

F2 - Processing parameters  
 SI 65536  
 SF 500.1300137 MHz  
 WDW no  
 SSB 0  
 LB 0.00 Hz  
 GB 0  
 PC 1.00







## 5.4 Curriculum Vitae

### Persönliche Daten

Name	Elisabeth Lehner
Geburtsort	Wien
Staatsangehörigkeit	Österreich

### Ausbildung

2002-2013	Diplomstudium Pharmazie, Universität Wien
1999-2003	Diplomstudium Humanmedizin, 1. Studienabschnitt, Universität Wien
1991-1996	Bildungsanstalt für Kindergartenpädagogik Mater Salvatoris, Wien Reifeprüfung mit ausgezeichnetem Erfolg

### Beruflicher Werdegang

2009-2013	Tutorin, Department für Arznei- und Naturstoffsynthese, Universität Wien
2008-2009	Angestellte, Ordination Dr. Krančan, FA für Chirurgie, Wien
2003-2005	Ferialpraktikantin Stadt-Apotheke Gerasdorf, Niederösterreich

### Wissenschaftliche Arbeiten

*New synthetic approaches to novel MCHR<sub>1</sub> PET tracer precursors and reference compounds*, E. Schirmer, M. Mitterhauser, **E. Lehner**, C. Philippe, K. Shanab, W. Wadsak, H. Spreitzer.  
EHC 2010 - European Colloquium on Heterocyclic Chemistry, Wien, Österreich, 23.-27.8.2010

*Synthesis of Novel MCH receptor PET tracer precursors*, E. Schirmer, M. Mitterhauser, C. Philippe, **E. Lehner**, W. Wadsak, L.-K. Mien, K. Shanab, C. Neudorfer, W. Holzer, B. Datterl, M. Kratzel, H. Spreitzer.  
PACCON 2010 - Pure and Applied Organic Chemistry, Ubon Ratchathani, Thailand, 21.-23.1.2010