

J. Clin. Chem. Clin. Biochem.
Vol. 19, 1981, pp. 191–194

Synthese und Untersuchung substituierter Iodthyronine mit dem Ziel der Herstellung radiochemisch stabiler ^{125}I -Tracer hoher spezifischer Aktivität

Von H. Rokos und H. Steinmaus

Aus dem Forschungslabor der Henning Berlin GmbH

(Eingegangen am 11. März 1980/14. Januar 1981)

Zusammenfassung: Die bei der Synthese von T_4 -Tracern hoher spezifischer Aktivität auftretende Doppelmarkierung begrenzt deren Verwendungsfähigkeit erheblich; verschiedene 3'-Substituenten wurden daher auf ihre Eignung untersucht, dies zu verhindern, ohne die notwendige Bindung an T_4 -Antikörper wesentlich zu beeinträchtigen. Die gemessenen Kreuzreaktivitäten zu T_4 (3'-Brom- T_3 und 3'-Isopropyl- T_3 85,6 bzw. 8,9%) legen nahe, daß die Antikörperbindung durch den elektronischen Einfluß des 3'-Substituenten stärker beeinflußt wird als durch seine Raumerfüllung. Durch Dünnschichtchromatographie konnte gezeigt werden, daß der 3'-Bromsubstituent unter Markierungsbedingungen mit Chloramin T nicht gegen Iod ausgetauscht wird. 3'-Bromthyronine sind daher geeignete Ausgangsprodukte zur Herstellung radiochemisch stabiler 3'-Brom-5'- ^{125}I -iodderivate, die als Tracer für die entsprechenden 3'.5'-Diiodthyronine verwendbar sind.

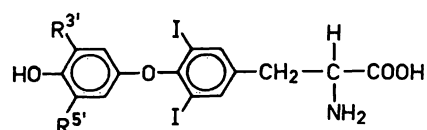
Synthesis and investigation of substituted iodothyronines with the aim of obtaining radiochemically stable ^{125}I -tracers of high specific activity

Summary: Various substituents were tested for their ability to replace 3'-iodine of T_4 without affecting binding to T_4 antibodies and without exchanging with ^{125}I during synthesis of high specific activity T_4 . Measured cross-reactivities of 3'-bromo- T_3 and 3'-isopropyl- T_3 relative to T_4 were 85.6 and 8.9%, respectively, thus suggesting a high contribution of the ionised 4'-hydroxy group to antibody binding. The 3'-bromo substituent is not exchanged with ^{125}I during labelling by the chloramine-T method. Therefore, 3'-bromothyronines are suitable starting materials for the synthesis of 3'-bromo-5'- ^{125}I iodothyronines of high specific activity; these have the advantage of a long shelf life comparable to [^{125}I] T_3 , because only ^{125}I -monolabelled thyronines are produced.

Einführung

Verschiedene Untersuchungen belegten, daß die Haltbarkeit und Verwendungsfähigkeit von Thyroxin (T_4)¹⁾-Tracern mit steigender spezifischer Aktivität derselben stark abnimmt; dies ist auf deren zunehmende Doppelmarkierung zurückzuführen, die durch kein Markierungsverfahren – Substitution oder Austausch – zu vermeiden ist. Eine ausführliche Diskussion dieser Fragen und der radiochemischen Stabilität von Thyroxintracern wird von Bölke et al. (1) in der folgenden Arbeit gegeben.

Da jedoch durch hochmarkierte T_4 -Tracer die Empfindlichkeit von T_4 -Radioimmunoassays gesteigert werden kann, wären für spezielle Fragestellungen, wie z. B. zur Bestimmung von freiem T_4 oder beim Screening auf neonatale Hypothyreose, besser haltbare Tracer mit spezifischen Aktivitäten von etwa 111 MBq/ μg von Vorteil. Dieselben Überlegungen gelten natürlich für alle 3'.5'-Diiodthyronin-Tracer, wobei vor allem die Bestimmung des rT_3 bereits gewisse Bedeutung erlangte. Um stabilere Tracer hoher spezifischer Aktivität zu erhalten, muß durch geeignete Substituenten die Dop-



¹⁾ Abkürzungen: T_4 = L-Thyroxin; T_3 = 3.3'.5-Triiod-L-thyronin; rT_3 = 3.3'.5'.5'-Triiod-L-thyronin; T_2 = 3.5-Diiod-L-thyronin; iPrT_2 = 3'-Isopropyl-3.5-diiod-L-thyronin; iPrT_3 = 3'-Isopropyl-3.5.5'-triiod-L-thyronin; BrT_1 = 3'-Brom-3-iod-L-thyronin; BrT_2 = 3'-Brom-3.5-diiod-L-thyronin; Br_2T_2 = 3'.5'-Dibrom-3.5-diiod-L-thyronin; BrT_3 = 3'-Brom-3.5.5'-triiod-L-thyronin; T_4Ac = N-Acetyl-L-thyroxin; T_4OEt = L-Thyroxinethylester; TBG = Thyroxin bindendes Globulin.

pelmarkierung vermieden werden. Jedoch darf dadurch die Bindung des Tracers analog dem Antigen an den Antikörper nicht wesentlich beeinträchtigt werden.

Material und Methoden

Lösungen wurden im allgemeinen am Rotationsverdampfer im Wasserstrahlpumpenvakuum eingedampft. Sämtliche Verbindungen wurden, falls nicht anders angegeben, bei Raumtemperatur im Wasserstrahlpumpenvakuum über P_2O_5 getrocknet. Schmelzpunkte sind nicht korrigiert.

Für Dünnschichtchromatographie wurden Fertigplatten und Fertigfolien (Merck, Kiesegel 60) verwendet. Laufmittel: (1) Ethylacetat/Methanol/ NH_3 , 2 mol/l (Volumina 5 l + 2 l + 1 l); (2) CHCl_3 /Methanol/ NH_3 , 15 mol/l (Volumina 6 l + 3 l + 0,3 l); (3) CHCl_3 /Ethanol/ NH_3 , 2 mol/l (Volumina 3 l + 5 l + 1 l).

Säulenchromatographische Reinigungen wurden an Sephadex LH 20 durchgeführt, Elutionsmittel Ethylacetat/Methanol/ NH_3 , 2 mol/l (z. B.: Volumina 8 l + 2 l + 1 l).

Die spektroskopischen Daten wurden mit folgenden Geräten erhalten:

Absorptionsspektren: Zeiss-Spektralphotometer DM 4

NMR-Spektren: Varian A-60A (60 MHz), mit Trimethylsilan als innerem Standard

Massenspektren: Varian MAT CH 7, direkter Einlaß, 70 eV

3'-Isopropyl-3,5-diiod-L-thyronin (iPrT₂) (2)

2,0 g (3,4 mmol) 3,5-Diiod-4-(4'-methoxy-3'-isopropylphenoxy)-L-phenylalanin werden in 50 ml Eisessig mit 3,0 g rotem Phosphor, 1 ml konz. HI und 8 ml konz. HBr 6 h am Rückfluß gekocht. Nach Stehen über Nacht wird im Vakuum eingeeengt, der Rückstand in 150 ml heißem Ethanol aufgenommen; das Filtrat wird mit 50 ml Wasser und mit gesättigter Natriumacetatlösung bis pH 5 versetzt. Ein geringer Niederschlag wird abgesaugt, das Filtrat mit 3,5 l Wasser versetzt. Das Produkt wird abgesaugt und mit Wasser gewaschen; Ausbeute: 1,1 g (56%). Die Reinigung dieses Produktes erfolgt durch Säulenchromatographie über 100 g LH 20; aus 100 mg werden 60 mg (60%) iPrT₂, Fp 225–226 °C (Zers.) erhalten. MS (70 eV): m/e = 567 (M⁺), 523 (M-CO₂). - ¹H-NMR (DMSO-d₆/D₂O): δ = 1.1 (d, 6H, CH-(CH₃)₂), 2.8–3.6 (m, 4H, CH₂-CH, CH-(CH₃)₂), 6.25 (m, 1H, 5'-H), 6.85 (m, 2H, 2'.6'-H₂), 7.85 (s, 2H, 2.6-H₂).

Die Abspaltung der Schutzgruppen beim N-Acetyl-3,5-diiod-4-(4'-methoxy-3'-isopropylphenoxy)-L-phenylalaninethylester wird analog durchgeführt. Die Spaltungsbedingungen von Blank et al. (2) lieferten das 3,5-Diiod-4-(4'-methoxy-3'-isopropylphenoxy)-L-phenylalanin, farbloses Produkt, Fp 215–217 °C (Zers.). MS (70 eV): m/e = 581 (M⁺), 537 (M-CO₂), 507 (M-CO₂-CH₂O). - ¹H-NMR (DMSO-d₆/D₂O): δ = 1.12 (d, 6H, CH-(CH₃)₂), 2.8–3.6 (m, 4H, CH₂-CH, CH-(CH₃)₂), 3.73 (s, 3H, O-CH₃), 6.3 (m, 1H, 5'-H), 6.8 (m, 2H, 2'.6'-H₂), 7.84 (s, 2H, 2.6-H₂).

3'-Isopropyl-3,5,5'-triiod-L-thyronin (iPrT₃) (3)

100 mg (0,17 mmol) iPrT₂ werden in 4 ml wässrigem Ethylamin, 7,3 mol/l, gelöst. Bei 10–15 °C werden 4,2 ml KI₃, 50 mmol/l, langsam zugetropft. Nach 1 h werden 45 ml HCl, 1 mol/l, zugesetzt, mit Na₂S₂O₅ entfärbt und mit gesättigter Natriumacetatlösung auf pH 4,5 gestellt. Der Niederschlag wird abgesaugt und aus Methanol/HCl mit Natriumacetat/H₂O umgefällt. Ausbeute: 65 mg (55%) farbloses Produkt, Fp 188–190 °C (Zers.). MS (70 eV): m/e = 649 (M-CO₂).

3'-Brom-3,5-diiod-L-thyronin (BrT₂) (4)

5,25 g (10 mmol) T₂ werden in 70 ml Eisessig mit 1 ml konz. HCl gelöst. Bei 22 °C werden innerhalb 25 min 1,6 g (10 mmol) Brom in 30 ml Eisessig zugetropft. Nach 30 min werden 100 ml H₂O und wenig Na₂S₂O₅ zugegeben und mit NaOH, 2,5 mol/l, langsam auf pH 4 gestellt. Der Niederschlag wird abgesaugt, gut mit H₂O gewaschen. Ausbeute: 5,4 g (89%) farbloses Produkt; Fp 246–248 °C (Zers.). MS (70 eV): m/e = 605, 603 (M⁺); 561, 559 (M-CO₂).

3'-Brom-3,5,5'-triiod-L-thyronin (BrT₃)

Zu 3,08 g (5 mmol) BrT₂ in 40 ml methanol. Methylamin, 12,9 mol/l, werden 5 ml KI₃, 1 mol/l, bei 20 °C zugetropft.

Nach Zugabe von 15 g Natriumacetat × 3H₂O wird noch 1 h gerührt. Der hellgelbe Niederschlag wird abzentrifugiert und mit gesättigter Natriumacetatlösung gewaschen. Aus wässr. Methanol/ NH_3 wird zweimal mit HCl umgefällt. Ausbeute: 1,1 g (30%) fast farbloses Produkt, Fp 236–238 °C (Zers.). MS (70 eV): m/e = 687, 685 (M-CO₂).

3'.5'-Dibrom-3,5-diiod-L-thyronin (Br₂T₂) (5)

5,25 g (10 mmol) T₂ werden in 50 ml Eisessig und 1 ml konz. HCl suspendiert, bei Raumtemperatur werden innerhalb 30 min 1,1 ml (21,8 mmol) Brom in 25 ml Eisessig zugetropft. Nach 30 min werden 100 ml H₂O und wenig Na₂S₂O₅ zugegeben und mit gesättigter Natriumacetatlösung auf pH 2 gestellt. Der Niederschlag wird abgesaugt und in 500 ml Methanol mit 2 ml konz. HCl gelöst. Nach Filtration wird mit gesättigter Natriumacetatlösung auf pH 4,5 gebracht; abgesaugt, gut mit H₂O gewaschen. Ausbeute: 5,2 g (76%) farbloses Produkt; Fp 262–264 °C (Zers.) (l. c. (5): 136–138 °C). MS (70 eV): m/e = 641, 639, 637 (M-CO₂).

3'-Brom-3-iod-L-thyronin (BrT₁) (4)

227 mg (0,5 mmol) 3-Iod-L-thyronin × HCl × H₂O werden in 10 ml Eisessig unter Zusatz von 0,2 ml konz. HCl gelöst. Dann werden bei Raumtemperatur 80 mg Brom in 5 ml Eisessig zugetropft. Nach 1 h werden 10 ml Wasser und wenig Na₂S₂O₅, anschließend NaOH, 2,5 mol/l, bis pH 5 zugetropft. Der Niederschlag wird abgesaugt und mit viel Wasser gewaschen. Ausbeute: 160 mg (66%) farbloses Produkt; Fp 202–204 °C (Zers.).

Radioaktive Markierungen mit ^{125}I

Als Puffer wird 0,5 mol/l Phosphat pH 7,5 verwendet. Zu 18,5 MBq Na¹²⁵I (Behringwerke) in 10 µl Puffer werden 0,3–0,4 µg der 3'-Bromthyronine in 10 µl Puffer gegeben. 30 s nach Zugabe von 9 µg Chloramin T in 10 µl Puffer wird die Reaktion mit 24 µg Na₂S₂O₅ in 10 µl H₂O gestoppt.

Die Reinigung der Tracer erfolgt vorzugsweise (6) durch absteigende Papierchromatographie (Whatman 3 MM) mit dem Laufmittel *n*-Hexan/*tert*-Amylalkohol/ NH_3 , 2 mol/l (Volumina 1 l + 5 l + 6 l). Die das Produkt enthaltende Zone wird nach Lokalisation mittels Dünnschichtscanner (Berthold) mit verd. methanolischem NH_3 eluiert.

Bestimmung der Kreuzreaktivität

Alle Verdünnungen werden in 0,08 mol/l Barbitallpuffer pH 8,4 hergestellt, der 1 g/l Rinderserumalbumin (Behringwerke) enthält. Die Inkubation wird in Eppendorf-Röhrchen durchgeführt: 100 µl Iodthyronin (0,06–100 ng) und 500 µl Cocktail (etwa 40 pg [¹²⁵I]T₄, spez. Aktivität etwa 18,5 MBq/µg; Anti-Kaninchen-γ-Globulin/Esel, 1:100; Wellcome) werden nach Zugabe (Hamilton PB 600) von 100 µl T₄-Antiserum (Kaninchen; 1:2400) 2 h bei Raumtemperatur inkubiert, dann mit 0,5 ml H₂O verdünnt und zentrifugiert. Der Überstand wird abgesaugt, das Präzipitat mit 1 ml H₂O gewaschen; nach erneuter Zentrifugation wird seine Radioaktivität gemessen (Berthold-Frieseke, BF 6000). B₀/T liegt bei etwa 54%; 50% Verdrängung wird durch 1,2 ng/Röhrchen T₄ erreicht.

Ergebnisse und Diskussion

Die Verwendung der Isopropylgruppe als bei der Markierung nicht austauschender 3'-Substituent lag nahe, da das 3'-Isopropyl-3,5-diiod-L-thyronin (iPrT₂) noch eine höhere thyromimetische Wirkung als T₃ aufweist (7) und auch stärker an intakte Kerne aus Rattenleber bindet (8). Auch 3'-Isopropyl-3,5,5'-triiod-L-thyronin (iPrT₃), dessen Darstellung allerdings nicht beschrieben wurde, weist gegenüber T₄ erhöhte thyromimetische Wirksamkeit auf (3, 9). Bei der Bindung verschiedener Thyronine an TBG allerdings wird die Reihenfolge T₄ > rT₃ > T₃ > iPrT₂ gefunden (10), wodurch eine

stärkere Beteiligung des Phenolations wahrscheinlich gemacht wird.

Wenn für die Beurteilung der Substituenteneinflüsse deren Elektronendonatoreigenschaften und die Raumerfüllung herangezogen werden, sollte Brom als Ersatz für Iod ebenfalls geeignet sein. Für Brom/Iod/Isopropyl werden die folgenden Werte (11) angenommen: $\sigma_p = 0.23/0.18/-0.15$; $\pi = 0.86/1.12/1.53$, d.h. die Übereinstimmung von Iod zu Brom ist besser als zur Isopropylgruppe. Aus der Betrachtung von Kalotten-Modellen folgt, daß auch die Raumerfüllung der beiden Halogene eher vergleichbar ist, während die Isopropylgruppe mehr Raum beansprucht. Da noch keine im phenolischen Ring gemischt Br-I-substituierten Thyronine beschrieben waren, kam der Frage des Austausches von Br gegen I unter den Markierungsbedingungen natürlich entscheidende Bedeutung zu, obwohl die größere Stabilität einer Br-C- im Vergleich zur I-C-Bindung gegen einen Austausch spricht.

Bei der Synthese des $i\text{PrT}_2$ nach Blank (2) wurde zunächst entgegen den Literaturangaben der Methylether isoliert; dessen Spaltung erfolgte erst beim Erhitzen mit Brom-/Iodwasserstoffsäure und rotem Phosphor. $i\text{PrT}_2$ und sein Methylether sind dünnschichtchromatographisch kaum zu unterscheiden; dies gelang mittels NMR-Spektroskopie ($4\text{'-OMe } \delta = 3.73 \text{ ppm}$) und Massenspektroskopie (Molekularpeaks m/e 567 bzw. 581). Untersuchungen mit $i\text{PrT}_2$, bei dem die Abspaltung der 4'-Methyl gruppe nicht besonders überprüft wurde, sollten daher mit gewisser Vorsicht betrachtet werden. 3'-Brom thyronine wurden durch direkte Bromierung mit Brom in Eisessig (5) erhalten: BrT_1 , BrT_2 , Br_2T_2 . Die Iodierung der 5'-Position des $i\text{PrT}_2$ und BrT_2 wurde mit KI_3 -Lösung in wäßrigem Alkylamin durchgeführt. Nach säulenchromatographischer Trennung der Rohprodukte an Sephadex LH 20 wurde $i\text{PrT}_3$ und BrT_3 rein erhalten.

Die Kreuzreaktivitäten verschiedener Thyroxinanaloga wurden in Barbitallpuffer pH 8,4 aus Standardkurven bei 50% Verdrängung eines T_4 -Tracers (etwa $18,5 \text{ MBq}/\mu\text{g} = 0,5 \text{ mCi}/\mu\text{g}$) vom T_4 -Antikörper bestimmt; sie sind in Tabelle 1 zusammengefaßt. $i\text{PrT}_3$ zeigt zu T_4 nur 8,9% Kreuzreaktivität; dies steht im Einklang mit der Kreuzreaktivität von $i\text{PrT}_2$ zu T_3 im T_3 -RIA von 4% und kann vermutlich auf die Erniedrigung des pK_a -Wertes der phenolischen OH-Gruppe durch Halogensubstitution zurückgeführt werden ($\text{pK}_a: \text{T}_2 = 10,28$; $\text{T}_3 = 8,86$,

Tab. 1. Kreuzreaktivitäten einiger T_4 -Derivate und T_4 -Analoga.

Verbindung	50% Verdrängung des $^{125}\text{I}\text{T}_4$ bei $\mu\text{g}/\text{l}$	relativ zu T_4 (%)
T_4	11,9	100
T_4OEt	11,4	104
T_4Ac	6,8	175
$i\text{PrT}_3$	134	8,9
Br_2T_2	25,0	47,6
BrT_3	13,9	85,6

$\text{T}_4 = 6,79$), wobei $i\text{PrT}_2$ und $i\text{PrT}_3$ ähnliche pK_a -Werte wie T_2 und T_3 aufweisen dürften. Daraus kann geschlossen werden, daß bei der Bindung an die Antikörper (zumindest an die hier untersuchten) im Gegensatz zu den T_3 -Rezeptoren die Ionisierung der OH-Gruppe eine größere Rolle spielt. Dagegen zeigt die hohe Kreuzreaktivität von 85% – bei anderen Antikörpern wurden bis zu 100% gemessen (persönliche Mitteilung, Böлке et al.) –, daß BrT_3 in allen Eigenschaften sehr ähnlich T_4 sein muß und, entsprechend markiert, einen Tracer für T_4 ergeben könnte (Pseudo- T_4), falls auch bei der radioaktiven Markierung kein Brom austausch erfolgt.

Beim Vergleich der Kreuzreaktivitäten fällt besonders auf, daß sie für N-Acetyl-L-thyroxin 175% und für den Thyroxinethylester 104% betragen, bezogen auf T_4 . Der hier verwendete Antikörper war durch Immunisation mit T_4 -Ethylester-Rinderserumalbumin-Konjugat in Kaninchen erhalten worden. Die Konjugation des T_4OEt an Rinderserumalbumin mit Carbodiimid kann nur über die Aminogruppe erfolgen, d.h. die 175%ige Kreuzreaktivität des T_4Ac bestätigt damit die strukturell bessere Übereinstimmung dieser Verbindung mit dem Konjugat im Vergleich zu T_4 . Die höhere Stabilität der Kohlenstoff-Brom-Bindung im Vergleich zur Kohlenstoff-Iod-Bindung unter den Iodierungsbedingungen mit KI_3 bzw. Chloramin T und Iodid konnte mit Hilfe dünnschichtchromatographischer Untersuchungen gezeigt werden (siehe Abb. 1), da es gelang, durch geeignetes Laufmittel und mittels Mehrfachentwicklung BrT_3 und T_4 chromatographisch zu trennen. Wegen der geringen Laufunterschiede liegt die Nachweisgrenze für T_4 in BrT_3 bei dieser Methode nur bei 3–5%. Ein genauerer Nachweis gelang mit Hilfe der Markierung mit ^{82}Br im BrT_2 (1).

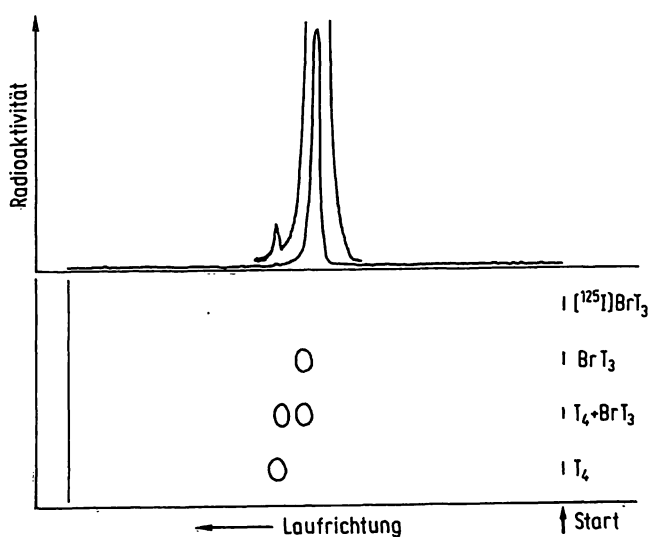


Abb. 1. Dünnschichtchromatographische Trennung von T_4 und BrT_3 sowie $^{125}\text{I}\text{BrT}_3$. Kieselgel; Laufmittel $\text{CHCl}_3/\text{Methanol}/\text{NH}_3$, 15 mol/l (Volumina 6 l + 3 l + 0,3 l), Dreifachentwicklung; Detektion mit UV-Licht (254 nm) bzw. Dünnschichtscanner.

Beide Methoden zeigten übereinstimmend, daß der 3'-Bromsubstituent praktisch nicht gegen Iod ausgetauscht wird.

Das nach der Chloramin T-Methode erhaltene 3'-Brom-5'- ^{125}I -iod-3.5-diod-L-thyronin zeigte im RIA für Gesamt- T_4 seine Verwendbarkeit. Je nach verwendetem T_4 -Antiserum (Kreuzreaktivität von BrT_3 100 bzw. 85%) verlaufen die Standardkurven mit $^{125}\text{I}]\text{BrT}_3$ im Vergleich zum normalen $^{125}\text{I}]\text{T}_4$ -Tracer identisch bzw. zu niedrigeren Konzentrationen verschoben (siehe Abb. 2). Diese Verschiebung kann auf die etwas geringere Bindungsfähigkeit des letzteren Antikörpers für BrT_3 , verglichen mit T_4 , zurückgeführt werden.

Bei der Verwendung von frischem, trägerfreiem Na^{125}I zur Markierung erreicht die spezifische Aktivität des Produktes BrT_3 annähernd die theoretisch möglichen etwa $111 \text{ MBq}/\mu\text{g} = 3 \text{ mCi}/\mu\text{g}$. Genaue Stabilitätsuntersuchungen (1) zeigten, daß die Stabilität eines derartigen T_4 -analogen Tracers jedoch praktisch mit der des 3'- ^{125}I -3.5-diod-L-thyronins übereinstimmt (< 5% Zersetzung in 60 Tagen).

Damit wurde gezeigt, daß für 3'.5'-Diodthyronine relativ einfach stabile ^{125}I (oder ^{131}I) monomarkierte Tracer erhalten werden, wenn als Ausgangsprodukte für die Markierung nicht die entsprechenden 3'-Iodverbindungen sondern 3'-Bromderivate verwendet werden. Die Herstellung der für freies T_4 -, reverse T_3 - und 3'.5'- T_2 -Radioimmunoassays benötigten Tracer hoher spezifischer

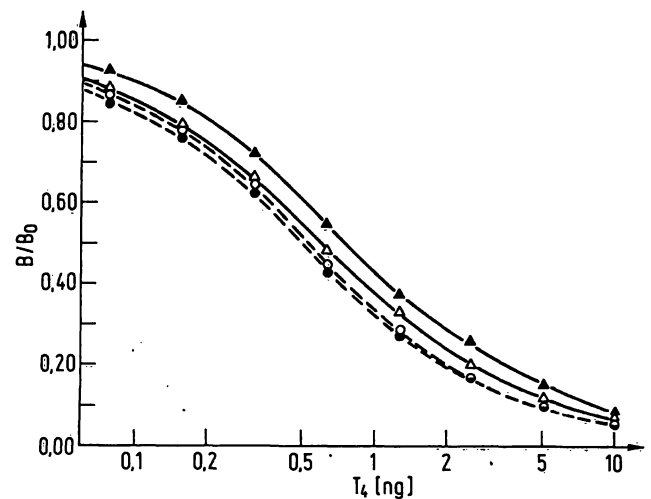


Abb. 2. Standardkurven im T_4 -RIA unter Verwendung zweier Antiseren mit 100% (\circ , Δ) bzw. 85% (\bullet , \blacktriangle) Kreuzreaktivität und $^{125}\text{I}]\text{BrT}_3$ (\circ , Δ) bzw. $^{125}\text{I}]\text{T}_4$ (\bullet , \blacktriangle) Tracer. Totalaktivität jeweils etwa 20000 Imp./min pro Röhrchen, spezifische Aktivität $^{125}\text{I}]\text{BrT}_3$ 103,6 kBq/ng bzw. $^{125}\text{I}]\text{T}_4$ 18,5 kBq/ng.

Aktivität kann damit in größeren Zeitabständen erfolgen als bisher.

Danksagung

Wir danken Frl. B. Zorn, Frau U. Ullrich-Schnepf und Herrn S. Hille für ihre Mitarbeit bei Synthesen und der RIA-Durchführung sowie Frau H. Luczak für das Schreiben des Manuskriptes.

Literatur

- Bölke, L., Herzmann, H. & Vormum, G. (1981), diese Z. 19, 195–201, nachstehend.
- Blank, B., Pfeiffer, F. R., Greenberg, C. M. & Kerwin, J. F. (1963), J. Med. Chem. 6, 554–560.
- Wool, M., Fang, V. S. & Selenkow, H. A. (1966), Endocrinology 78, 29–33.
- Musett, M. V. & Pitt-Rivers, R. (1957), Metab. Clin. Exp. 6, 18–25.
- Petersen, B. A. & Vouros, P. (1977), Anal. Chem. 49, 1304–1311.
- Meinhold, H. & Sörje, H. (1978), in Nuklearmedizin (Oeff, K. & Schmidt, H. A. E., eds.), Bd. 1, 185–192, Medico-Informationsdienste, Berlin.
- Greenberg, C. M., Blank, B., Pfeiffer, F. R. & Pauls, J. F. (1963), Am. J. Physiol. 205, 821–826.
- Koerner, D., Schwartz, H. L., Surks, M. I., Oppenheimer, J. H. & Jorgensen, E. C. (1975), J. Biol. Chem. 250, 6417–6423.
- Dietrich, S. W., Bolger, M. B., Kollman, P. A. & Jorgensen, E. C. (1977), J. Med. Chem. 20, 863–880.
- Snyder, S. M., Cavalieri, R. R., Goldfine, I. D., Ingbar, S. H. & Jorgensen, E. C. (1976), J. Biol. Chem. 251, 6489–6494.
- Hansch, C., Leo, A., Unger, S. H., Kim, K. H., Nikaitani, D. & Lien, E. J. (1973), J. Med. Chem. 16, 1207–1216.

Dr. Hartmut Rokos
Forschungslabor
Henning Berlin GmbH
Komturstraße 19–20
D-1000 Berlin 42