

Kuparivälitteinen ^{18}F -radiofluoraukemia

Ira Tulla
Pro Gradu -tutkielma
Kemian laitos
Turun yliopisto
Maaliskuu 2024

Turun yliopiston laatu järjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

TURUN YLIOPISTO

Kemian laitos

TULLA IRA: Kuparivälitteinen ^{18}F -radiofluoraukemia

Pro Gradu -tutkielma, 38 s.

Maaliskuu 2024

Fluori-18 on yksi tärkeimmistä radionuklideista PET-kuvantamisessa. Perinteisesti ^{18}F -fluorauksen menetelmät on jaettu nukleofiiliseen ja elektrofiiliseen fluoraukseen, joista kummassakin on omat haasteensa. Siirtymämetallivälitteinen fluoraus yhdistää elektrofiilisen fluorauksen reaktiivisuuden ja nukleofiilisen fluorauksen paikkaspesifisyyden ja korkean molaarisen aktiivisuuden. Siirtymämetallivälitteistä fluorausta on tutkittu esimerkiksi nikkelillä, palladiumilla, hopealla, ruteniumilla ja kuparilla. Kuparivälitteisen fluorauksen etuna ovat muun muassa kaupallisesti saatavilla olevat lähtöaineet. Lisäksi kuparin sallittu päiväannos elimistössä on suurempi kuin muilla tutkituilla siirtymämetalleilla.

Pääasiassa keskushermostossa sijaitsevat tyypin 1 (CB1) kannabinoidireseptorit ovat osa endokannabinoidisysteemiä, joka on yhteydessä muun muassa aivojen kehitykseen, muistiin, oppimiseen, kivun tuntemiseen ja ruokahaluun. CB1-reseptorien toiminnan muutosten uskotaan olevan yhteydessä neuropsykiatrisiin sairauksiin sekä aivojen rappeumaan. CB1-reseptoreja voidaan tutkia PET-kuvantamisen avulla.

Tässä työssä keskityttiin tutkimaan CB1-merkkiaineen, $[\text{}^{18}\text{F}]\text{FPATPP}$:n, kuparivälitteistä fluorausta. $[\text{}^{18}\text{F}]\text{FPATPP}$ on aiemmin valmistettu ruteniumvälitteisesti. Kuparivälitteisen radioleimauksen lähtöaineeksi valmistettiin pinakolijohdannainen aryylibooriesteri. Aryylibooriesteri valikoitui lähtöaineeksi, koska se on suhteellisen helppo valmistaa, sen lähtöaineita on kaupallisesti saatavilla, eikä se vaadi korkeita lämpötiloja reagoidakseen.

Kuparivälitteinen ^{18}F -fluoraus osoittautui potentiaalisesti vaihtoehdoksi $[\text{}^{18}\text{F}]\text{FPATPP}$:n valmistamiseen. Menetelmää on kuitenkin kehitettävä edelleen tuotteen radiokemiallisen saannon ja -puhtauden parantamiseksi.

Avainsanat: PET-kuvantaminen, fluori-18, kuparivälitteinen ^{18}F -leimaus, kannabinoidireseptori, FPATPP

Sisällysluettelo

Lyhenneluettelo	1
1 Johdanto	3
1.1 Fluori-18 PET-kuvantamisessa	3
1.1.1 Positroniemissiotomografia (PET)	3
1.1.2 Fluori-18 ominaisuudet	3
1.1.3 Fluori-18 tuottaminen	4
1.2 Molaarinen aktiivisuus	6
1.3 Elektrofiilinen ^{18}F -fluoraus	7
1.4 Nukleofiilinen ^{18}F -fluoraus	7
1.5 Siirtymämetallivälitteinen ^{18}F -fluoraus	8
1.6 Kuparivälitteinen ^{18}F -fluoraus	8
1.6.1 Aryylihalidien ^{18}F -fluoraus	8
1.6.2 Aryylijodoniumsuolojen ^{18}F -fluoraus	10
1.6.3 Aryylistannaanien ^{18}F -fluoraus	12
1.6.4 Arylibooriestereiden, -boorihappojen ja -trifluoroboraattien ^{18}F -fluoraus	14
1.7 CB1R-spesifisen merkkiaineen ^{18}F -fluoraus	18
1.7.1 [^{18}F]FMPEP ja [^{18}F]FMPEP- d_2	19
1.7.2 [^{18}F]FPATPP	20
1.7.3 Työn tarkoitus ja taustaa	21
2 Tutkimusosuus	22
2.1 Materiaalit ja menetelmät	22
2.2 Lähtöaineen valmistus	22
2.3 Fluoridin tuotanto	26
2.4 [^{18}F]FPATPP:n valmistus	27
2.5 Analysointimenetelmät	28
2.6 Tulosten tarkastelu	28
2.6.1 Lähtöaineen valmistus	28
2.6.2 Radioleimaus	29

Johtopäätökset

32

Viiteluettelo

33

Lyhenneluettelo

[Me ₃ PyF]PF ₆	1-fluori-2,4,6-trimetyylipyridiini
AgF	hopeafluoridi
A _m	molaarinen aktiivisuus
Bu ₄ NF	tetra-n-butyyliammoniumfluoridi
CB1R	tyypin 1 kannabinoidi reseptori
CpRu(COD)Cl	syklopentadienyylirutenium(1,5-syklo-oktadieeni)kloridi
Cs ₂ CO ₃	cesiumkarbonaatti
CsF	cesiumfluoridi
Cu(MeCN) ₄ PF ₆	tetrakis(asetonitriili)kupari(I)heksafluorifosfaatti
Cu(OTf) ₂ (py) ₄	kuparidi(trifluorimetaanisulfonaatti)tetrapyridiini
CuOTf	kuparitriflaatti
DMA	dimetyyliasetamidi
DMF	dimetyyliformamidi
DMSO	dimetyylisulfoksidi
EtOAc	etyyliasetatti
EWG	elektroneja puoleensavetävä ryhmä (electron-withdrawing group)
FDOPA	6-fluori- <i>L</i> -DOPA
FMPEP	((3 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-5-(3-(fluorimetoksi- <i>d</i> ₂)fenyyli)-3-((<i>R</i>)-1-fenyylietyyliamino)-1-(4-(trifluorimetyyli)fenyyli)pyrrolidin-2-oni)
FPATPP	(3 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-5-(3-fluorifenyyli)-3-((<i>R</i>)-1-fenyylietyyliamino)-1-(4-(trifluorimetyyli)fenyyli)-pyrrolidin-2-oni
FPEB	3-fluori-5-((pyridin-3-yyli)etynyli)bentsonitriili
FPHE	4-fluorifenyylialaniini
HCl	vetykloridi
HF	vetyfluoridi

HPLC	korkean erotuskyvyn nestekromatografia (high performance liquid chromatography)
K ₂₂₂	Kryptofix ₂₂₂
K ₂ CO ₃	kaliumkarbonaatti
KF	kaliumfluoridi
KOTf	kaliumtriflaatti
LiOTf ₂	litiumtriflaatti
Me ₄ NF	tetrametyyliammoniumfluoridi
MeCN	asetonitriili
MePPEP	((3 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-5-(3-metoksifenyyli)-3-((<i>R</i>)-1-fenyylietyyliamino)-1-(4-trifluorimetyylifenyyli)-pyrrolidin-2-oni)
MK-9470	<i>N</i> -[(2 <i>S</i> ,3 <i>S</i>)-3-(3-syanofenyyli)-4-(4-etoksifenyyli)butan-2-yyli]-2-metyyli-2-[(5-metyylypyridin-2-yyli)oksi]propanamidi
MPPF	2'-metoksifenyyli-(<i>N</i> -2'-pyridinyyli)- <i>p</i> -fluoribentsamidietylipiperatsiini
Na ₂ SO ₄	natriumsulfaatti
NaHCO ₃	natriumvetykarbonaatti
NFTPT	<i>N</i> -fluori-2,4,6-trimetyylypyridiinitriflaattia
NMR	ydinmagneettinen resonanssi (nuclear magnetic resonance)
Pd(dppf)Cl ₂	[1,1'-Bis(difenyylylivosfiino)ferroseeni]diklooripalladium
PET	positroniemissiotomografia
PipISB	<i>N</i> -(4-Fluoribentsyyli)-4-[3-(piperidin-1-yyli)indoli-1-sulfonyyli]bentsamidi]
RCY	radiokemiallinen saanto (radiochemical yield)
S _E Ar	elektrofiilinen aromaattinen substituutio
SPE	kiinteäfaasiuutto (solid phase extraction)
TBAOTf	tetrabutyyliammoniumtrifluorimetaanisulfaatti
THF	tetrahydrofuraani
TLC	ohutkerroskromatografia (thin layer chromatography)

1 Johdanto

1.1 Fluori-18 PET-kuvantamisessa

1.1.1 Positroniemissiotomografia (PET)

Positroniemissiotomografia (PET) on korkean resoluution kuvantamismenetelmä, jossa käytetään lyhytikäisiä positroniemittoivia radionuklideja. Kun radionuklidista β^+ -hajoamisen seurauksena syntyvät positronit törmäävät väliaineen elektroneihin, tapahtuu annihilaatio, jossa kaksi 511 keV gammakvanttia lähtevät vastakkaisiin suuntiin. PET-kameran avulla havaitaan annihilaation tapahtumapaikka.¹ Yleisimpiä PET-kuvantamisessa käytettäviä radionuklideja ovat hiili-11, fluori-18, happi-15 ja gallium-68. Kun radionuklidi liitetään biologisesti aktiiviseen molekyyliin, se saadaan kulkeutumaan elimistössä haluttuun kohteeseen, esimerkiksi tiettyyn reseptoriin. PET-kuvantamisen avulla voidaan tutkia elimistön fysiologiaa, biokemiallisia ja farmakologisia prosesseja, minkä vuoksi sitä hyödynnetään esimerkiksi neurologiassa, kardiologiassa, onkologiassa ja lääkekehityksessä.²

1.1.2 Fluori-18 ominaisuudet

Fluorin kemia on hyvin monipuolista, minkä vuoksi fluoria hyödynnetään lääketieteellisessä kemiassa paljon. Fluoriatomi on pienikokoinen ja voi kokonsa puolesta korvata yhdisteessä esimerkiksi vedyn tai hydroksyyliyhdyntien. Fluori on elektronegatiivisin alkuaine. Se muodostaa hiilen kanssa erittäin polaarisen ja kestävästi sidoksen.³ Elektronegatiivisuutensa vuoksi fluori saattaa siis vaikuttaa merkittävästi yhdisteen fysiokemiallisiin ominaisuuksiin, kuten emäksisyyteen, lipofiilisyyteen sekä metaboliseen pysyvyyteen.^{4,5}

Fluori-18 on hiili-11:n ohella käytetyimpiä radionuklideja, koska sillä on monia PET-kuvantamisen kannalta edullisia ominaisuuksia (taulukko 1). Sen verrattain pitkä puoliintumisaika (109,8 min) mahdollistaa monivaiheisen radiomerkkiainesynteesin ja antaa aikaa esimerkiksi tuotteen puhdistukselle ja kuljetukselle.⁶ Fluori-18 hajoaa erittäin puhtaasti β^+ -hajoamisen kautta (97 % β^+ , 3 % EC (elektronikaappaus)). Fluori-18:lla on matala positronin maksimienergia (634 keV), minkä ansiosta positronit kulkevat väliaineessa vain lyhyen matkan ennen annihilaatiota eli törmäämistä elektroniin. Tämä

takaa korkean resoluution PET-kuvantamisessa, sillä PET-kamera havaitsee vain paikan, jossa annihilaatio tapahtuu.⁷

Taulukko 1. Yleisimpien PET-kuvantamisessa käytettyjen radionuklidien ominaisuuksia.^{8,9}

Radionuklidi	Puoliintumisaika (min)	β^+ -hajoamisen osuus (%)	Positronin maksimienergia (keV)
¹¹ C	20,4	99,8	960
¹³ N	9,9	99,8	1199
¹⁵ O	2,0	99,9	1732
¹⁸ F	109,8	96,9	634
⁶⁸ Ga	67,6	88,9	1920

1.1.3 Fluori-18 tuottaminen

Neon-20:n säteilyttäminen deuteroneilla, ydinreaktiolla $^{20}\text{Ne}(d,\alpha)^{18}\text{F}$, on ollut pitkään yleisimpiä menetelmiä fluori-18:n tuottamiseen. Tällä menetelmällä voidaan tuottaa vedetöntä fluoria joko [¹⁸F]F₂-kaasuna tai [¹⁸F]vetyfluoridina ([¹⁸F]HF). Menetelmän haasteena on kuitenkin ollut tuotteiden matala molaarinen aktiivisuus (0,37 GBq/μmol).^{10,11} Nykyään yleisemmin käytetty menetelmä [¹⁸F]F₂-kaasun tuottamiseen on ¹⁸O-rikastetun happikaasun säteilyttäminen protoneilla, jolloin tapahtuu ydinreaktio $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$. Tällä menetelmällä tuotetun [¹⁸F]F₂-kaasun molaarinen aktiivisuus on parhaimmillaan noin 1,3 GBq/μmol.¹²

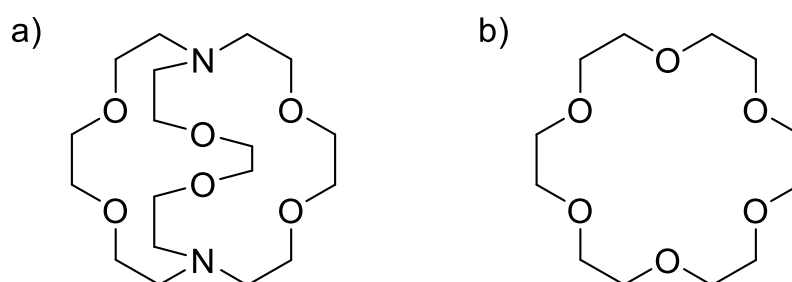
Elektrofiilisen [¹⁸F]F₂-kaasun tuottamiseen on kehitetty kaksivaiheinen ”post-target”-menetelmä, jolla voidaan saavuttaa huomattavasti korkeampi molaarinen aktiivisuus (55 GBq/μmol) kuin aiemmin kuvatulla menetelmällä.¹³ ”Post-target” -menetelmän ensimmäisessä vaiheessa syklotronilla valmistetusta [¹⁸F]fluoridianionista tuotetaan [¹⁸F]fluorimetaania. Toisessa vaiheessa fluorimetaani johdetaan Ne-kaasulla täytettyyn purkauskammioon yhdessä stabiilin fluori-19-kantajakaasun kanssa. Purkauskammioon kohdistetaan korkea jännite, jonka avulla tapahtuu ¹⁹F/¹⁸F-isotooppivaihto, jolloin tuotteena muodostuu [¹⁸F]F₂-kaasua.

Säteilyttämällä happi-18-rikastettua vettä protoneilla voidaan tuottaa nukleofiilistä [¹⁸F]fluoridianionia. Tällä menetelmällä voidaan saavuttaa huomattavasti korkeampi

molaarinen aktiivisuus kuin elektrofiilistä $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ -kaasua tuottamalla. Fluoridianionin tapauksessa tuotteen molaarinen aktiivisuus voi olla jopa $5200 \text{ GBq}/\mu\text{mol}^{14}$, $43000 \text{ GBq}/\mu\text{mol}$ (Füchtner ym. 2008)¹⁵.

$[^{18}\text{F}]\text{Fluoridin aktivointi}$

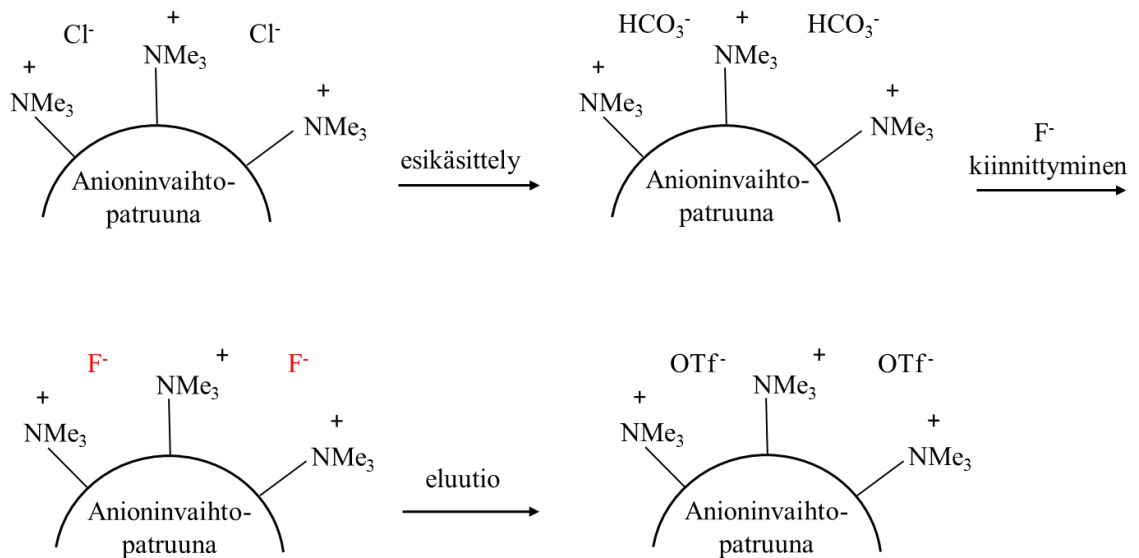
^{18}O -rikastetusta vedestä tuotettu $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ (aq) on vesiliuoksessa huono nukleofiili, koska se vuorovaikuttaa veden vetyionien kanssa. Fluoridi on siis aktivoitava ennen radioleimausta poistamalla vesi. Perinteinen menetelmä veden poistoon on atseotrooppinen tislauk. ¹⁶ Tässä menetelmässä $[^{18}\text{F}]\text{fluoridivesiliuos}$ viedään ensin anioninvaihtopatruunan läpi, jolloin $[^{18}\text{F}]\text{fluoridi}$ kiinnittyy patruunaan ja ^{18}O -rikastettu vesi voidaan kerätä talteen ja käyttää uudelleen. $[^{18}\text{F}]\text{fluoridi}$ huuhdotaan patruunasta heikon emäksen, esimerkiksi kaliumkarbonaatin vesiliuoksen avulla. $[^{18}\text{F}]\text{fluoridin}$ liukoisuutta voidaan parantaa faasinvaihtokatalyytin avulla. Yleisesti käytettyjä faasinvaihtokatalyyttejä ovat esimerkiksi Kryptofix₂₂₂ (K_{222})¹⁷ ja 18-kruunu-6-kruunueetteri¹⁸ (kuva 1). Vesi haihdutetaan atseotrooppisesti tislamalla polaarisen aproottisen liuottimen, kuten asetonitriilin, avulla.¹⁶ Tislauksessa on kiinnitettävä huomiota tislauolosuhteisiin ja reaktioastian materiaaliin, sillä $[^{18}\text{F}]\text{fluoridi}$ voi jäädä kiinni astian seinämiin. Atseotrooppinen tislauk on mahdollista tehdä myös ilman $[^{18}\text{F}]\text{fluoridi-vesiliuoksen}$ viemistä ensin anioninvaihtopatruunan läpi. Tällöin reaktioastiaan lisätään faasinvaihtokatalyytin lisäksi heikko emäs.



Kuva 1. a) Kryptofix222 b) 18-kruunu-6.

Atseotrooppinen tislauk on puoliintumisajan näkökulmasta aikaa vievä prosessi. Nykyään veden poistamiseen käytetäänkin usein pelkkää kiinteäfaasiuuttoa (SPE). Kiinteäfaasiuutossa $[^{18}\text{F}]\text{fluoridi-vesiliuos}$ viedään anioninvaihtopatruunan läpi, kuten edellä mainitussa menetelmässä. Seuraavassa vaiheessa patruuna huuhdotaan

orgaanisella liuottimella veden poistamiseksi ja lopulta [^{18}F]fluoridi irrotetaan patruunasta sopivan eluenttiliuoksen, esimerkiksi kuparitriflaatin avulla.¹⁷ SPE-patruuna voidaan esikäsitellä emäksellä eluoinnin tehostamiseksi esimerkiksi kaliumkarbonaatilla (K_2CO_3). Fluoridi-vesiliuos työnnetään SPE-patruunan läpi, jolloin fluoridianioni sitoutuu patruunaan vetykarbonaatti-ionin tilalle. Kun patruunaa eluoidaan kuparitriflaatin avulla, eluentin triflaatti-ionit kiinnittyvät patruunaan ja fluoridi eluoituu ulos patruunasta (kuva 2).



Kuva 2. Kiinteäfaasiuutto (SPE).¹⁸

1.2 Molaarinen aktiivisuus

Molaarisella aktiivisuudella (A_m) tarkoitetaan radioaktiivisuutta suhteessa yhdisteen ainemäärään. PET-merkkiaineissa korkea molaarinen aktiivisuus on usein toivottavaa, jotta kuvantamisen yhteydessä voidaan injektoida pienempiä pitoisuuksia.¹³ Tarvittava molaarisen aktiivisuuden määrä riippuu kuitenkin tilanteesta. Korkea A_m on erityisen tärkeä kuvannettaessa reseptoreja, joita on vain vähän. Korkea molaarinen aktiivisuus takaa sen, että mahdollisimman moneen reseptoriin sitoutuu nimenomaan haluttu radioaktiivinen merkkiaine.¹⁹ Myös biologisesti aktiivisten tai toksisten yhdisteiden tapauksessa tarvitaan korkeaa molaarista aktiivisuutta, jotta farmakologiset tai haitalliset vaikutukset olisivat olemattomat ja PET-kuvantaminen säilyisi ei-invasiivisena menetelmänä.¹³ Matala molaarinen aktiivisuus voi riittää kuvannettaessa elimistössä runsaasti esiintyviä biomolekyylejä, kuten aminohappoja, rasvahappoja tai glukoosia. Kun biomolekyylejä on suuria pitoisuuksia verrattuna merkkiaineeseen, molaarisella

aktiivisuudella ei ole suurta merkitystä. Nämä molekyylit eivät myöskään ole elimistölle myrkyllisiä, joten injisoitavalle määrälle ei ole niin suuria vaatimuksia.²⁰

1.3 Elektrofiilinen ¹⁸F-fluoraus

Elektrofiilisessä fluorauksessa F⁺-kationi reagoi elektronirikkaan rakenteen kanssa. Yleisimpiä elektrofiilisiä fluorausmenetelmiä ovat aromaattiset substituutioreaktiot (S_EAr) ja alkeenien additioreaktiot. Elektrofiilisessä fluorauksessa käytettävä fluorikaasu F₂ on erittäin reaktiivinen ja vahva hapetin, mikä johtaa usein huonoon paikkaselektiivisyyteen ja ei-toivottuihin sivutuotteisiin.²¹ Elektrofiilisessä ¹⁸F-fluorauksessa käytetään kantajakaasuna ei-radioaktiivista fluoria. Fluori-18-rikastetun fluorikaasun F₂-molekyylissä on siis yksi ¹⁸F-atomi ja yksi ¹⁹F-atomi.¹⁷ Tämän takia tuotteen molaarinen aktiivisuus jää matalaksi. Lisäksi radiokemiallinen saanto on maksimissaan 50 %, koska fluoreista vain toinen (F⁺) reagoi elektrofiilisesti.

Fluorikaasun äärimmäistä reaktiivisuutta voidaan hillitä liuottamalla se inerttiin kaasuun, kuten typeen tai jalokaasuun.^{21,22} Lähtöaineen rakenteella voidaan myös vaikuttaa fluorausreaktioon. Esimerkiksi elektroneja puoleensavetävä ryhmä tekee aromaattisesta renkaasta vähemmän alttiin elektrofiiliselle substituutiolle.^{23,24} Hyvän lähtevän ryhmän avulla voidaan ohjata reaktio haluttuun paikkaan. Fluorikaasusta on valmistettu myös vähemmän reaktiivisia johdannaisia, kuten Selectfluor bis(triflaatti).²⁵

1.4 Nukleofiilinen ¹⁸F-fluoraus

Nukleofiilisessä radiofluorauksessa käytetään lähtöaineena [¹⁸F]fluoridianionia. Nukleofiiliset leimausmenetelmät voidaan jakaa alifaattisiin ja aromaattisiin leimauksiin, joista tässä tutkielmassa keskitytään aromaattisten yhdisteiden leimauksiin. Nukleofiilisen radiofluorauksen etu elektrofiiliseen verrattuna on sen paikkaspesifisyys sekä leimatun merkkiaineen tyypillisesti korkea molaarinen aktiivisuus ja radiokemiallinen saanto.

Aromaattisten renkaiden nukleofiilinen leimaus on haastavaa, sillä [¹⁸F]fluoridianionin sitoutuminen vaatii elektroneja puoleensavetävän ryhmän sekä hyvän lähtevän ryhmän *orto*- tai *para*-asemaan.²⁶ Elektroneja puoleensavetäviä ryhmiä ovat esimerkiksi -NO₂, -CF₃, -CN ja -CHO. Hyviä lähteviä ryhmiä ovat esimerkiksi trimetyylitina, halidit sekä boorihapot ja -esterit.

Kaksi yleisimmin käytetyistä nukleofiilisistä fluorausmenetelmistä on halidinvaihto aryylikloridin ja alkalimetallifluoridin välillä, sekä diaryyliodoniumsuolojen reaktio alkalimetallifluoridin kanssa.²⁷ Perinteiset nukleofiiliset leimausreaktiot vaativat yleensä korkeita lämpötiloja (yli 150 °C).

1.5 Siirtymämetallivälitteinen ¹⁸F-fluoraus

Viime vuosina mielenkiinto on kohdistunut siirtymämetallivälitteiseen fluoraukseen, joka yhdistää elektrofiilisen fluorauksen reaktiivisuuden sekä nukleofiilisella fluorauksella saavutettavan spesifisyyden ja korkean molaarisen aktiivisuuden. Siirtymämetallivälitteinen fluoraus voidaan usein tehdä synteessin loppuvaiheessa ("late stage fluorination"), jolloin radioleimatun merkkiaineen siirtämiselle ja käyttämiselle jää enemmän aikaa. Radiofluorauksessa käytettyjä siirtymämetalleja ovat esimerkiksi palladium²⁸, nikkeli²⁹, rutenium²⁶ ja kupari³⁰.

1.6 Kuparivälitteinen ¹⁸F-fluoraus

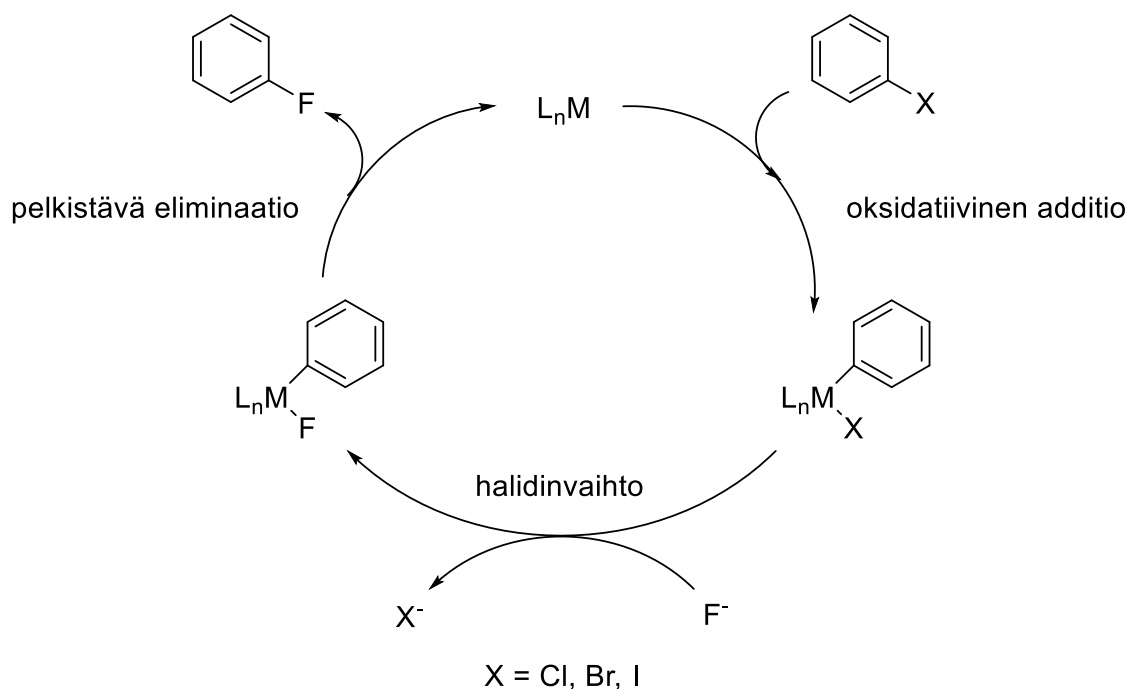
Kuparilla on monia hyviä ominaisuuksia verrattuna muihin ¹⁸F-leimauksessa käytettyihin siirtymämetalleihin. Kuparikompleksit eivät ole yhtä herkkiä kosteudelle kuin palladium- ja nikkelikompleksit. Kuparin suurin sallittu päiväannos suonensisäisesti annosteltuna on 340 µg eli huomattavasti suurempi kuin esimerkiksi palladiumin (10 µg), nikkelin (22 µg) tai ruteniumin (10 µg).³¹ Kuparivälitteinen fluoraus voidaan tehdä suhteellisen matalissa lämpötiloissa verrattuna esimerkiksi perinteiseen nukleofiiliseen fluoraukseen, ja lähtöaineita on kaupallisesti saatavilla.³²

1.6.1 Aryylihalidien ¹⁸F-fluoraus

Aryylifluoridit ovat niiden ainutlaatuisen stabiilisuuden, reaktiivisuuden ja biologisten ominaisuuksien ansiosta hyödyllisiä esimerkiksi lääketieteessä. Aryylifluoridiryhmä on metabolisesti pysyvä ja voi lisätä yhdisteen biologista aktiivisuutta.³³ Aromaattisen renkaan metallivälitteistä fluorausta on tutkittu paljon stabiililla fluori-19:llä, ja näitä tutkimuksia on voitu hyödyntää PET-merkkiaineiden ¹⁸F-leimausmenetelmien kehityksessä.

Casitas ym. tutkivat vuonna 2011 kuparivälitteisen nukleofiilisen substituution mekanismia fluoraamalla makrosyklisiä aryylihalideja (MeCN)₄CuOTf:n avulla.³⁴ Fluoridin lähteenä käytettiin hopeafluoridia (AgF) tai kaliumfluoridia (KF) ja liuottimena

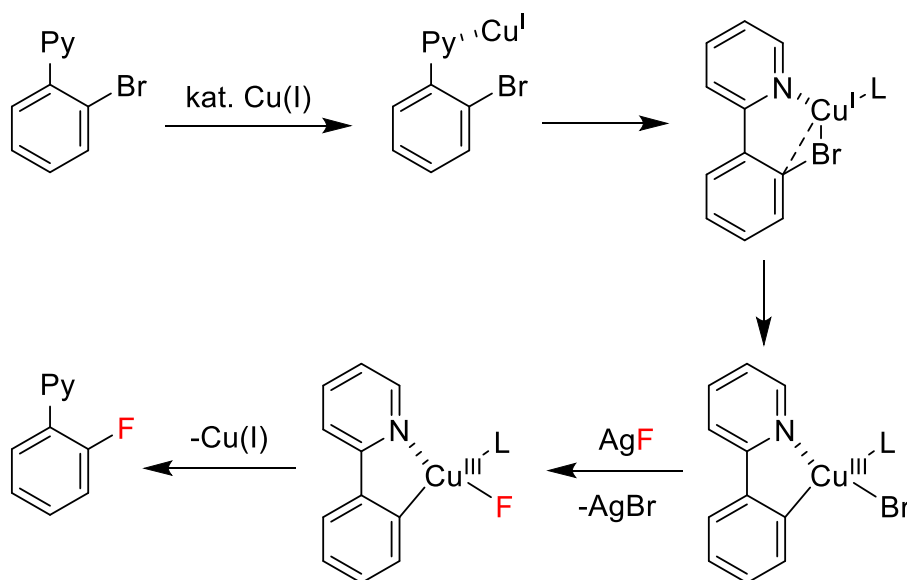
asetonitriiliä tai asetonitriilin ja asetonin seosta. Parhaaksi fluoridin lähteeksi todettiin AgF, jota käyttämällä päästiin huoneenlämmössä tehdyissä reaktioissa jopa yli 97 % saantoihin käyttämällä lähtöaineina aryyliklorideita tai -bromideita. Muut fluoridin lähteet, kuten Bu₄NF, Me₄NF tai CsF eivät tuottaneet haluttuja tuloksia. Reaktiossa pääteltiin olevan kolme vaihetta; aryylihalidin oksidatiivinen additio, halidinvaihto sekä pelkistävä eliminaatio (kuva 3).



Kuva 3. Aryylihalidin siirtymämetallivälitteisen fluorauksen reaktiomekanismi.³⁴

Fier ym. kehittivät vuonna 2012 aryylijodidien nukleofiilisen kuparivälitteisen fluorausmenetelmän, jossa fluoridin lähteenä käytettiin AgF:ää.³³ Haasteena oli sopivan kupariligandin löytäminen, jotta muodostuva Cu–F-kompleksi olisi riittävän pysyvä. Parhaimmaksi kuparin lähteeksi osoittautui (tBuCN)₂CuOTf, jonka avulla pystyttiin valmistamaan lukuisia erilaisia aryylifluorideja. Etenkin steerisesti estyneillä rakenteilla saannot olivat erinomaisia, jopa 96 %. Reaktion pääteltiin tapahtuvan siten, että aryylijodidi liittyy ensin kuparikompleksiin oksidatiivisella additiolla, jolloin muodostuu aryylikupari(III)jodidi, jossa on vielä kiinni triflaattiryhmä. Reaktio AgF:n kanssa liittyy fluorin jodin tilalle kompleksiin. Pelkistävä eliminaatio irrottaa (tBuCN)₂CuOTf:n halutusta aryylifluoridista. Tutkimuksissa kävi myös ilmi, että liiallinen määrä AgF:ää pienensi lopputuotteen saantoa. Tämä johtui luultavasti siitä, että hopeaioni aiheutti ei-toivottuja hapetus-pelkistysreaktioita kuparin kanssa.³³

Mu ym. tutkivat vuonna 2014 pyridiyliaryylibromidien kuparivälitteistä fluorausta käyttäen fluoridin lähteenä AgF:ää ja kuparikatalyyttinä $\text{Cu}(\text{MeCN})_4\text{PF}_6$:a.³⁵ Reaktioon pääteltiin tapahtuvan $\text{Cu}^{\text{I}}/\text{Cu}^{\text{III}}$ -kierron avulla (kuva 4). Aryylibromidiin liittynyt kuparikatalyytti hapettuu intramolekulaarisessa hapettavassa additiossa. Tämän jälkeen tapahtuu ligandinvaihto AgF:n kanssa, jolloin fluoridi liittyy bromin tilalle aroyyliin. Kuparikatalyytti irtoaa syntyneestä aroyylifluoridista pelkistävän eliminaation avulla. Menetelmässä hyödynnettiin *orto*-asemassa olevaa pyridiyliryhmää, joka sekä stabiloi Cu^{I} :n että nopeuttaa aroyylibromidin oksidatiivista additiota. Lähtöaineesta riippuen haluttu aroyylifluoridi tuotettiin parhaimmillaan noin 80 % saannolla. Pyridiylin havaittiin olevan välttämätön fluorausreaktion onnistumiselle. Jos lähtöaineessa oli pyridiyliryhmän tilalla esimerkiksi amidi-, ester- tai imiini-ryhmä, haluttua lopputuotetta ei muodostunut.



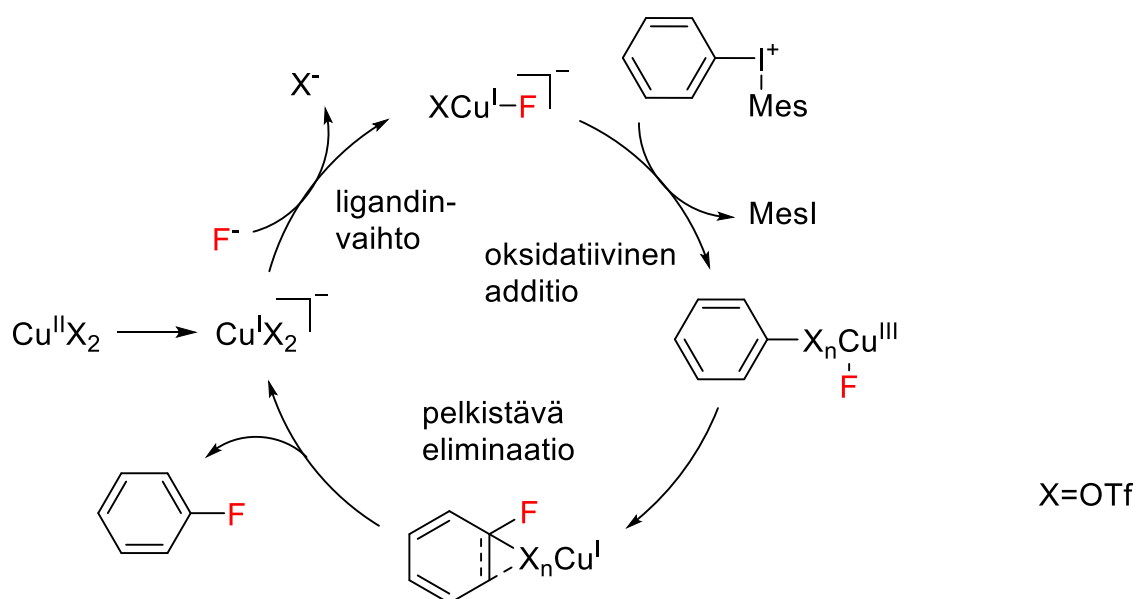
Kuva 4. Aryylibromidin kuparivälitteinen fluoraus.³⁵

1.6.2 Aryylijodoniumsuolojen ^{18}F -fluoraus

Perinteisen nukleofiilisen radioleimauksen haasteena on ollut erityisesti elektronirikkaiden rakenteiden leimaaminen. Käyttämällä leimauksen lähtöaineena aroyliidijodoniumsuoloja on onnistuttu leimaamaan sekä elektroniköyhiä että -rikkaita areeneja.³⁶ Diaryylijodoniumsuoloja voidaan käyttää myös $[^{18}\text{F}]$ fluoridin aktivoimiseen kiinteäfaasiuuttomenetelmällä, jolloin voidaan välttää aikaa vievää atseotrooppista tislausta.³⁷

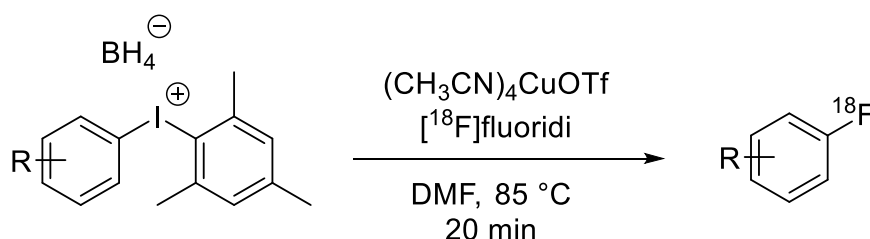
Vielä 2010-luvun alkupuolella jodoniumsuolojen ^{18}F -fluorausmenetelmissä oli haasteena reaktioiden huono paikkaselektiivisyys ja radiokemiallinen saanto, etenkin elektrofiilisillä menetelmillä.³⁸ Reaktiot vaativat myös korkeita lämpötiloja ja lähtöaineiden funktionaaliset ryhmät aiheuttivat usein ei-toivottuja sivutuotteita.²⁷ Nukleofiilisillä jodoniumsuolojen ^{18}F -fluorausmenetelmillä reaktiivisuus oli huono varsinkin elektronirikkaita rakenteita leimattaessa. Epäsymmetrisessä aryylijodoniumsuolassa fluoridi sitoutuu todennäköisemmin steerisesti estyneempään, *orto*-substituoituun, aryyliinryhmään.³⁶ Siirtymämetallivälitteinen jodoniumsuolojen fluoraus oli uusi kiinnostava menetelmä, ja tutkimuksia oli tehty jo esimerkiksi palladiumilla²⁸ ja nikkellillä.²⁹

Ichiishi ym. tutkivat vuonna 2013 epäsymmetristen diaryylijononiumsuolojen radiofluorausta käyttäen katalyyttinä kuparia ja fluoridin lähteenä kaliumfluoridia.²⁷ Kuparikatalyytti ohjaa fluoridin steerisesti vähemmän estyneeseen aryyliin. Fluorausreaktion oletettu mekanismi on $\text{Cu}^{\text{I}}/\text{Cu}^{\text{III}}$ -katalyyttinen kiertö (kuva 5). Ensin $\text{Cu}^{\text{II}}(\text{OTf})_2$ pelkistyy aktiiviseksi Cu^{I} -katalyytiksi. $[\text{F}^{18}]\text{KF}$:n fluoridianioni korvaa $\text{Cu}^{\text{I}}(\text{OTf})_2$:n toisen triflaattiryhmän, eli tapahtuu ligandinvaihto. Muodostunut $\text{Cu}^{\text{I}}(\text{OTf})(\text{F}^{18})$ hapettuu diaryylijononiumin avulla, jolloin muodostuu $\text{Cu}^{\text{III}}(\text{OTf})(\text{F}^{18})$ -aryylikompleksi. Tämä kompleksi pelkistyy oletettavasti π -kompleksivälivaiheen kautta halutuksi aryylifluoridiksi. Tällä menetelmällä fluorattiin onnistuneesti lukuisia diaryylijononiumsuoloja. Elektronirikkaitakin rakenteita leimattiin kohtuullisin saannoin.



Kuva 5. $\text{Cu}^{\text{I}}/\text{Cu}^{\text{III}}$ -katalyyttinen kiertö diaryylijononiumsuolojen kanssa.²⁷

Seuraavana vuonna Ichiishi ym. kehittivät menetelmän, jolla voitiin radiofluorata (mesityyli)(aryyli)jodoniumsuoloja käyttäen $(\text{CH}_3\text{CN})_4\text{CuOTf}$ kuparikatalyyttinä (kuva 6).³⁸ Tällä menetelmällä pystyttiin valmistamaan lukuisia ^{18}F aryylifluorideita radiokemiallisen saannon vaihdellessa yhdisteestä riippuen kohtuullisesta erinomaiseen. Menetelmää pystyttiin myös soveltamaan 4- ^{18}F fluorifenyylialaniinin ja 6- ^{18}F fluori-*L*-DOPA:n valmistamiseen kohtuullisin radiokemiallisin saannoin ($23 \pm 5 \%$ ^{18}F]-PHE ($n = 3$) ja $31 \pm 3 \%$ ($n = 3$) ^{18}F]-FDOPA).



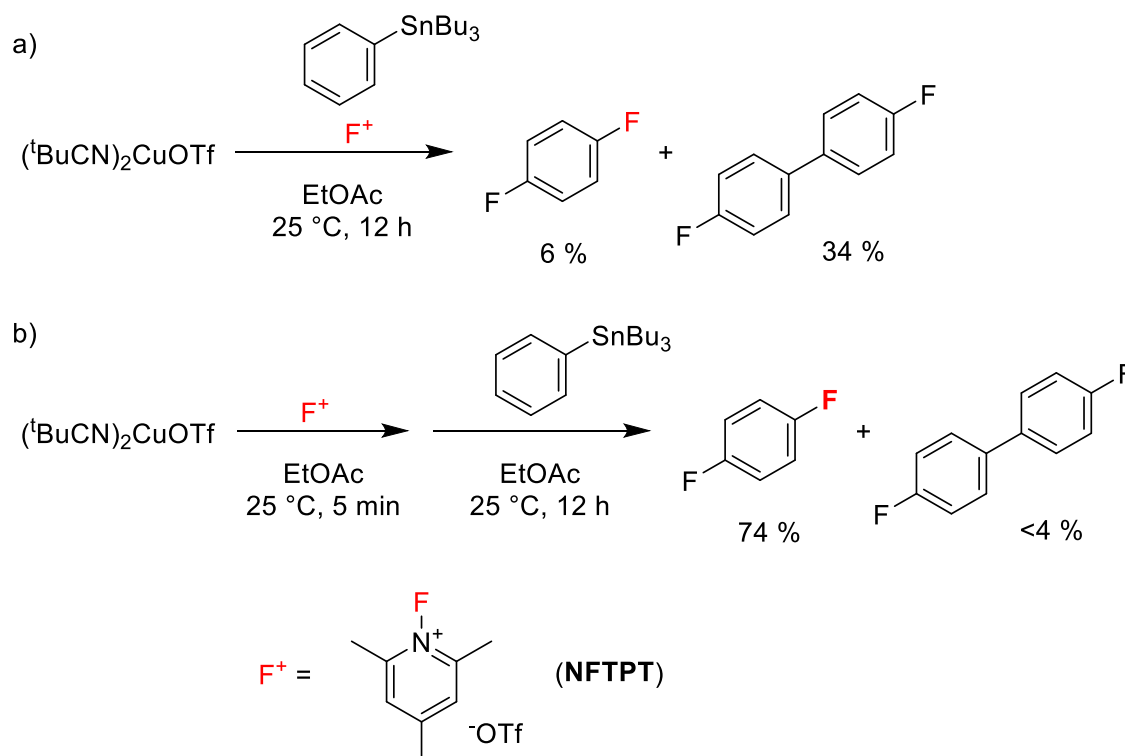
Kuva 6. (Mesityyli)(aryyli)jodoniumsuolojen ^{18}F -fluoraus.³⁸

Zlatopolskiy ym. tutkivat vuonna 2015 ^{18}F fluoridin aktivoinnissa käytetyn emäksen vaikutusta diaryyli-jodoniumsuolojen leimausreaktioon.³⁹ Vähentämällä emäksenä käytetyn K_2CO_3 :n määrää saanto parani. Kun eluointiin käytettiin 20,3 μmol K_2CO_3 :a saanto oli vain 5–7 %. Vähentämällä K_2CO_3 :n määrää 4,75 μmol :iin saavutettiin 41–64 % saannot. Zlatopolskiy ym. kehittivät myös menetelmän, jossa ei käytetty lainkaan emästä eikä atseotrooppista tislausta. ^{18}F fluoridi irrotettiin anioninvaihtopatruunasta leimauksen lähtöaineen diaryyli-jodonium-, triaryylisulfonium- tai ammoniumsuolan avulla metanoliliuoksessa. Tällä menetelmällä pystyttiin radiofluoraamaan hyvällä saannolla kolme PET-merkkiainetta; 6- ^{18}F fluoridopamiini (^{18}F]-FDA), 4- ^{18}F fluori-*L*-fenyylialaniini, 4- ^{18}F]-Phe ja (*N*-(2,5-dimetoksibentsyyli)-*N*-(5- ^{18}F fluori-2-fenoksifenyyli)asetamidi) ^{18}F]-DAA1106. Metanoli haihdutettiin liuoksesta 70–80 °C lämpötilassa 2–3 minuutissa. Metanolin haihduttaminen ei vaikuttanut radiokemialliseen saantoon merkittävästi. Menetelmä pystyttiin myös automatisoimaan.⁴⁰

1.6.3 Aryylistannaanien ^{18}F -fluoraus

Ye ja Sanford kehittivät vuonna 2013 aryylistannaanien kuparivälitteisen elektrofiilisen fluorausmenetelmän, joka on mahdollista tehdä jopa huoneenlämmössä. Fluorausreaktio tapahtui käyttäen $(^t\text{BuCN})_2\text{CuOTf}$:ää ja *N*-fluori-2,4,6-trimetyylipyridiinitriflaattia

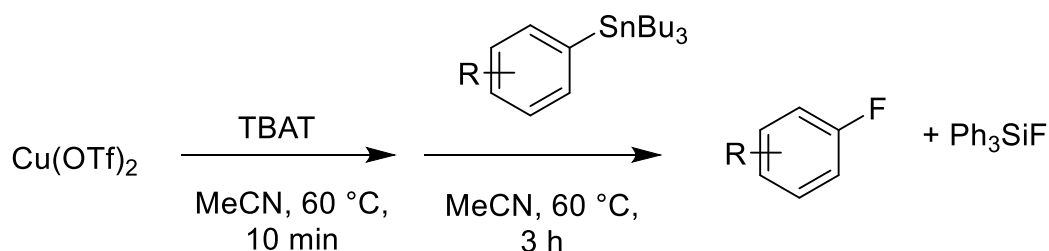
(NFTPT) sekä liuottimena etyyliasettaattia. Kahdentoista tunnin reaktion jälkeen saanto oli vain 6 %. Merkittävin sivutuote oli kahden aryylistannaanin muodostama biaryyliyhdiste.³⁰ Epäsuotuisan sivutuotteen muodostumista vähennettiin hapettamalla (^tBuCN)₂CuOTf-kompleksin kupari käyttäen NFTPT:tä reaktion alussa (kuva 7). Tämän lisävaiheen avulla saanto pystyttiin nostamaan jopa 74 %:iin. NFTPT toimi reaktiossa siis sekä fluorin lähteenä, että hapettimena. Tutkimuksissa kävi ilmi, että haluttua reaktiota ei tapahtunut ilman kuparikompleksia.



Kuva 7. Aryylistannaanien fluoraus a) ilman esikäsitteilyä NFTPT:llä ja b) NFTPT-esikäsitteilyn kanssa.³⁰

Gamache ym. tutkivat vuonna 2016 aryylistannaanien fluorausta Sanfordin ryhmän tulosten pohjalta, ja fluorasivat lukuisia aryylistannaaneja kuparivälitteisesti käyttäen fluoridin lähteenä tetrabutyyliammoniumtrifenyylidifluorisilikaattia (TBAT) ja kuparin lähteenä kuparitriflaattia $Cu(OTf)_2$ (kuva 8).⁴¹ Myös nämä tutkimukset osoittivat, että kupari toimii reaktiossa sekä hapettimena että apuna C–F-sidoksen muodostumisessa. Saanto nousi huomattavasti (46 %:sta 70 %:iin), kun $Cu(II)(OTf)(F)$ -kompleksi muodostettiin etukäteen sekoittamalla fluoridin lähdettä ja kuparitriflaattia hetken aikaa ennen aryylistannaanin lisäämistä reaktioseokseen. Myös liuottimen vaikutusta reaktioon

tutkittiin. Huomattiin, että fluorausreaktio ei onnistunut ilman asetonitriiliä. Gamache ym. päättelivät, että asetonitriili stabiloi aryylikupari(III)-välivaihetta ja tukee sen pelkistävää eliminaatiota.



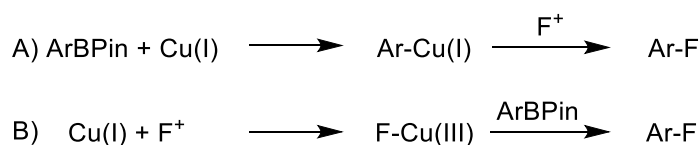
Kuva 8. Aryylistannaanin fluoraus.⁴¹

Makaravage ym. tutkivat vuonna 2016 aryylistannaanien ¹⁸F-fluorausta käyttäen fluoridin lähteenä [¹⁸F]KF:ää ja kuparin lähteenä Cu(OTf)₂:a.⁴² Parhaimmat saannot (50–64 % lähtöaineesta riippuen) saavutettiin 15 min reaktioajalla 140 °C lämpötilassa käyttäen liuottimena DMA:ta. Menetelmällä pystyttiin valmistamaan myös [¹⁸F]FDOPA 56 % saannolla. [¹⁸F]MPPF:n (2'-metoksifenyyli-(N-2'-pyridinyyli)-p-[¹⁸F]fluoribentsamidietyylipiperatsiini) valmistaminen tällä menetelmällä pystyttiin myös automatisoimaan. Automaattisella menetelmällä [¹⁸F]MPPF:n saanto oli 13 % ja manuaalisella menetelmällä 33 %.

1.6.4 Aryylibooriestereiden, -boorihappojen ja -trifluoroboraattien ¹⁸F-fluoraus

Ye ja Sanford sovelsivat vuonna 2013 aryylistannaaneilla toiminutta kuparivälitteistä fluorausmenetelmää stannaaneita vähemmän myrkyllisten aryylibooriestereiden ja -boorihappojen fluorauksessa.³⁰ Aryyliboorilähtöaineet ovat tyypillisesti helposti saatavilla olevia, kestäviä huoneenlämmössä, eivätkä ne yleensä vaadi korkeita lämpötiloja reagoidakseen.⁴³ Kuten aryylistannaanien tapauksessa, kuparikompleksia, (tBuCN)₂CuOTf:ää ja fluorilähdettä, NFTPT:tä, sekoitettiin 5 minuutin ajan ennen varsinaista reaktiota, joka tapahtui 40–80 °C lämpötilassa 12 tunnin ajan. Parhaiten menetelmä toimi aryyltrifluoriboraatille, jonka reaktiosaanto oli 46 %. Kun liuotin vaihdettiin etyyliasetaatista asetonitriiliin, reaktiosaanto nousi 56 %:iin. Menetelmää pystyttiin soveltamaan hyvillä saannoilla monille erilaisilla funktionaalisilla ryhmiä sisältäville aryyltrifluoriboraateille.³⁰

Fier ja Hartwig tutkivat vuonna 2013 aryylibooriestereiden kuparivälitteisen fluorauksen reaktiomekanismia.⁴³ Fluorattavina yhdisteinä käytettiin aryylipinakoliestereitä, jotka sietävät muita aryylibooriestereitä ja -boorihappoja paremmin ilmaa ja kosteutta. Kuparivälitteisen fluorauksen mekanismiksi esitettiin kahta vaihtoehtoa (kuva 9). Ensimmäisessä reaktiopolussa aryylipinakoliesteriin liitetään ensin Cu(I), minkä jälkeen aryyli-kupari(I)-kompleksi reagoi F⁺-lähteenä toimivan [Me₃PyF]PF₆:n kanssa. Toisessa reaktiopolussa sen sijaan Cu(I) reagoi aluksi [Me₃PyF]PF₆:n kanssa, jolloin kupari hapettuu ja muodostuu Cu(III)-fluoridikompleksi. Tämä kompleksi reagoi aryylipinakoliesterin kanssa muodostaen halutun aryylifluoridin. Kokeelliset tutkimukset osoittivat, että ensimmäinen reaktiopolku ei ollut mahdollinen. Jälkimmäistä reaktiopolkua testattiin NMR-tutkimusten avulla käyttäen liuottimena THF:ää. [Me₃PyF]PF₆ ei itsessään liukene THF:ään, eikä ¹⁹F-NMR-mittauksissa havaittu lainkaan signaalia. Kun [Me₃PyF]PF₆:ää liuotettiin yhdessä (tBuCN)₂CuOTf:n kanssa THF:ssä, muodostui 5 minuutissa väritön homogeeninen liuos, joka pystyttiin havaitsemaan sekä ¹H- että ¹⁹F-NMR-spektroskopisesti. NMR-tutkimustulokset osoittivat, että jälkimmäinen reaktiopolku on mahdollinen. Triflaatin kemiallisessa siirtymässä havaittiin 6,3 ppm muutos alaspäin verrattuna siirtymään ennen reaktiota. Tästä voitiin päätellä triflaatin sitoutuneen kompleksissa elektrofiiliseen kohtaan, kuten Cu(III)-keskukseen.⁴³ Fierin ja Hartwigin tutkimusten perusteella reaktion ensimmäisessä vaiheessa muodostuneen Cu(III)-fluoridikompleksin kupari sitoutuu aryyli-ryhmään muodostaen aryyli-Cu(III)-fluoridin, josta muodostuu pelkistävän eliminaation avulla haluttu aryylifluoridi.⁴³ Tämä tukee myös Ichiishi ym. 2013 aiemmin mainittua päätelmää kuparivälitteisen fluorauksen reaktiomekanismista Cu^I/Cu^{III}-katalyyttisen kierron kautta.²⁷

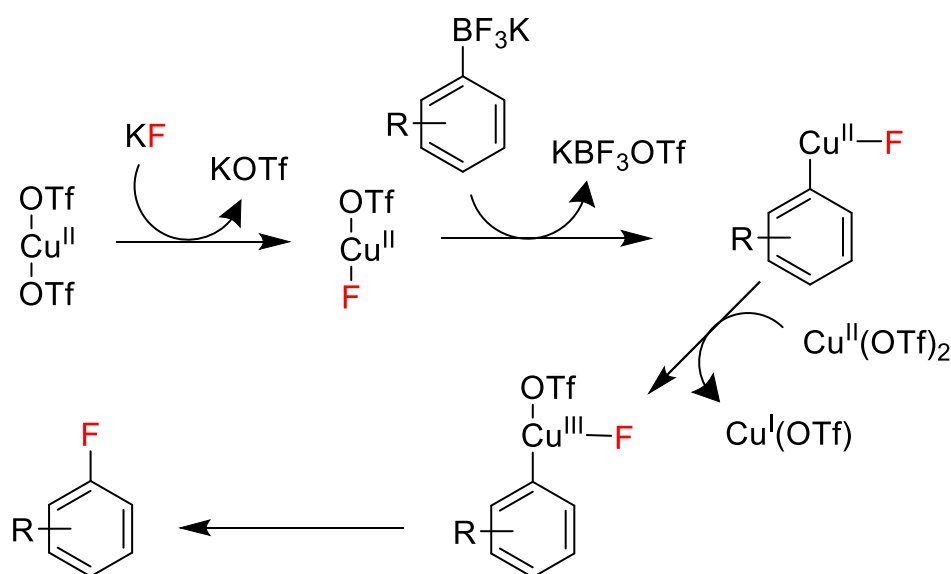


Kuva 9. Aryylipinakolesterin fluorauksen mahdolliset reaktiomekanismit.⁴³

Tredwell ym. tutkivat vuonna 2014 kuparikompleksin vaikutusta radiofluorausreaktioon.³² He kokeilivat useita ligandeja, joista Cu(OTf)₂:n ja pyridiinin avulla saavutettiin parhaat saannot. Käyttäen kuparikatalyyttinä Cu(OTf)₂(py)₄:ä ja ¹⁸F-

fluoridin lähteenä [^{18}F]KF:a fluorattiin useita (hetero)arylibooriestereitä, jotka sisälsivät monia erilaisia funktionaalisia ryhmiä. Lähtöaineesta riippuen tällä menetelmällä saavutettiin jopa yli 80 % saantoja. Suojaamattomia hydroksyyli- tai aminoryhmiä sisältävien lähtöaineiden leimaus tuotti haluttuja aryylifluorideita vain alle 10 % saannolla. Alkoholit ja amiinit suojattiin tästä syystä *tert*-butoksikarbonyyliryhmällä (Boc), jolloin saavutettiin lähtöaineesta riippuen 67–71 % saannot. Myös laajalti käytössä oleva radiomerkkiaine [^{18}F]FDOPA pystyttiin valmistamaan 12 % saannolla.

Ye ja Sanford kehittivät vuonna 2013 menetelmän, jolla voitiin fluorata elektroniköyhiä rakenteita kuparitriflaatin ja nukleofiilisen fluoridilähteen, kuten hopeafluoridin avulla.⁴⁴ He arvelivat aluksi AgF:n toimivan sekä fluoridin lähteenä että hapettimena, joka osallistuu fluorin sitoutumiseen aryylirenkaseen. Aryylitrifluoriboraatin fluoraus käyttäen $\text{Cu}(\text{OTf})_2$:a ja AgF:a tuotti haluttua aryylifluoridia 57 % saannolla, kun reaktioaika oli 20 h ja reaktiolämpötila 60 °C. Vertailureaktiossa käytettiin AgF:n sijasta huomattavasti matalamman pelkistymisenergiaalin omaavaa KF:a. Yllättäen KF:a käyttämällä saanto olikin suurempi, jopa 70 %. Tutkimustulokset osoittivat, että reaktiossa hapettimena toimiikin $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ (kuva 10). Jos $\text{Cu}(\text{OTf})_2$:n määrää vähennettiin alle 2 ekvivalentin, reaktion saanto väheni huomattavasti. Aryylitrifluoriboraatin huono puoli ^{18}F -leimauksen lähtöaineena on mahdollinen $^{19}\text{F}/^{18}\text{F}$ -ligandinvaihto, joka vähentää tuotteen molaarista aktiivisuutta.³² Jotta isotooppivaihdolta vältyttäisiin, menetelmää testattiin käyttäen aryyliotrifluoriboraatin tilalla aryylibooriesteriä, jolloin saannoksi saatiin 56 %.⁴⁴



Kuva 10. Aryylitrifluoroboraatin fluoraus.⁴⁴

Mossine ym. sovelsivat Sanfordin ryhmän tutkimusta³⁰ kuparivälitteisestä ¹⁹F-fluorauksesta aryylitrifluoroboraattien, aryylibooriestereiden ja aryyliboorihappojen kuparivälitteiseen ¹⁸F-leimaukseen [¹⁸F]KF:n avulla.⁴⁵ Tutkimuksessa keskityttiin optimoimaan reaktio-olosuhteet 4-[¹⁸F]fluoriasetofenonin valmistamiseen. Paras saanto (61 ± 8 % n = 7) saavutettiin, kun [¹⁸F]F⁻ eluointiin anioninvaihtopatruunasta heikosti emäksisellä liuoksella, jossa oli 73:1 moolisuhteella KOTf:a ja K₂CO₃:a. Eluutiotehokkuus oli jopa 80 %. [¹⁸F]KF:n atseotrooppisen tislauksen jälkeen reaktioseokseen lisättiin Cu(OTf)₂, pyridiini ja pyridinium *p*-tolueenisulfaatti (PPTS). PPTS:a käytetään orgaanisessa synteesissä heikosti happamana katalyyttinä, joka voi toimia myös pyridiniumin lähteenä.⁴⁶ Liuottimena käytettiin DMF:ää, reaktiolämpötila oli 110 °C ja reaktioaika 20 min. Saannot olivat yhtä hyviä käyttämällä CuOTf₂:a ja pyridiiniä erikseen kuin kalliimpaa CuOTf₂(py)₄-kompleksia. Menetelmällä pystyttiin valmistamaan myös yleisesti käytössä oleva radiomerkkiaine [¹⁸F]FPEB (3-[¹⁸F]fluoro-5-(2-pyridinyylietyyli)bentsonitriili).

Mossine ym. jatkoivat kuparivälitteisen fluorausmenetelmän tutkimista käyttäen leimauksen lähtöaineena pinakolijohdannaisia aryylibooriestereitä.^{47,48} Tarkoituksena oli kehittää menetelmä [¹⁸F]FDOPA:n valmistamiseen. Lähtöaineena toimivan aryylibooriesterin hydroksyyli- ja aminoryhmät suojattiin *tert*-butoksikarbonyyliryhmien (Boc) ja metoksimetyylieetteriryhmien (MOM) avulla ennen radioleimausta. [¹⁸F]fluoridi eluointiin anioninvaihtopatruunasta TBAOTf/Cs₂CO₃-seoksella ja tislattiin atseotrooppisesti. Reaktioastiaan lisättiin Cu(OTf)₂, pyridiini ja lähtöaine. Liuottimena käytettiin DMF:ää, reaktiolämpötila oli 110 °C ja reaktioaika 20 min. [¹⁸F]FDOPA:n saanto oli 49 %.

Antuganov ym. tutkivat vuonna 2016 pyridiinin määrän vaikutusta pinakolijohdannaisten aryylibooriestereiden kuparivälitteiseen [¹⁸F]F-fluoraukseen.⁴⁹ [¹⁸F]fluoridin lähteenä käytettiin [¹⁸F]KF:ää ja kuparikatalyyttinä CuOTf₂(py)₄-kompleksia. Ylimääräisen pyridiinin lisääminen reaktioon kasvatti saantoja merkittävästi. Esimerkiksi 2-[¹⁸F]fluorianisolin saanto oli 23 % ilman pyridiinilisäystä ja 80 %, kun reaktioon lisättiin 12 µl pyridiiniä. Parhaimmat tulokset saavutettiin, kun [¹⁸F]fluoridin eluoimiseen käytettiin Cs₂CO₃/K₂₂₂:a, ja pyridiiniä lisättiin 30:1 suhteessa kuparikatalyyttiin, ja. Pyridiinin pääteltiin stabiloivan aryyli-kuparikompleksia. Menetelmää käytettiin [¹⁸F]FDOPA:n ja 4-*L*-[¹⁸F]fluorifenyylialaniinin valmistamiseen. Näillä merkkiaineilla

pyridiinilisäyksen vaikutus oli pienempi, mutta silti huomattava, [¹⁸F]FDOPA:n saanto nousi 40 %:sta 64 %:iin ja 4-*L*-[¹⁸F]fluorifenyylialaniinin saanto 60 %:sta 71 %:iin (n = 3).

1.7 CB1R-spesifisen merkkiaineen ¹⁸F-fluoraus

Kannabinoidireseptorit ovat G-proteiinikytkettyjä reseptoreja, jotka ovat osa keskushermoston endokannabinoidijärjestelmää. Kannabinoidireseptorit voidaan jakaa kahteen tyyppiin; CB1- ja CB2-tyypin reseptorit.⁵⁰ CB1-reseptoreja esiintyy aivoissa ja keskushermostossa, etenkin hippokampuksessa, aivokuoressa, pikkuaivoissa, aivojuoviossa, mustatumakkeessa ja tyvitumakkeissa. Lisäksi CB1-reseptoreja on suolistossa, maksassa, pernassa, rasvakudoksessa, sydämessä, keuhkoissa ja luuytimessä. CB2-reseptorit sijaitsevat immuunijärjestelmän soluissa, kuten pernan makrofageissa, luuytimessä ja haimassa.^{51,52}

CB1-reseptoreja esiintyy erityisesti hermoston presynapseissa, joissa ne osallistuvat välittäjäaineiden vapautumisen säätelyyn.⁵⁰ Etenkin GABAergisissä ja glutamergisissä presynapseissa CB1-reseptorien aktivoituminen inhiboi gamma-aminovoihapon (GABA) ja glutamaatin vapautumista. CB1-reseptorien toiminnan muutosten uskotaan olevan yhteydessä neuropsykiatriisiin sairauksiin sekä aivojen rappeumaan, esimerkiksi Alzheimerin tautiin ja skitsofreniaan.⁵³

Hyvä PET-merkkiaine sitoutuu selektiivisesti haluttuun kohteeseen, esimerkiksi reseptoriin, eli ei-spesifisen sitoutumisen määrä on vähäinen. Aivoja tutkittaessa merkkiaineen on oltava riittävän lipofiilinen, jotta se läpäisee veri-aivoesteen.⁵⁴ Korkea molaarinen aktiivisuus on tärkeää, jotta kuvantamisessa voidaan käyttää mahdollisimman pieniä pitoisuuksia biologisesti vaikuttavaa ainetta.

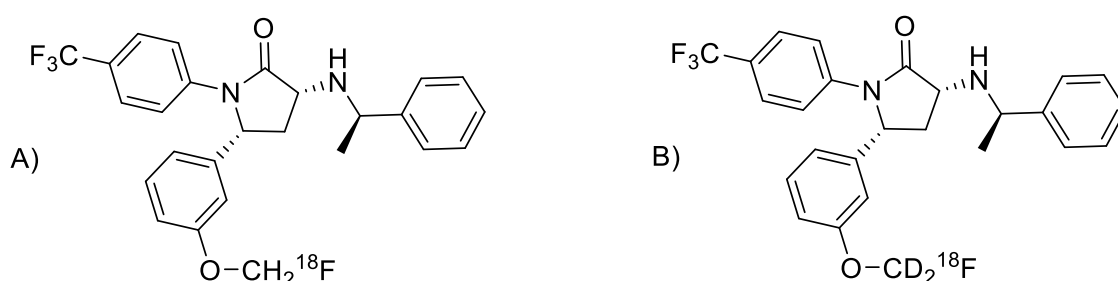
Kannabinoidireseptorien PET-merkkiaineissa käytetään radionuklidina usein hiili-11:ta tai fluori-18:aa. Molemmat hajoavat lähes täysin β⁺-hajoamisen kautta. Fluori-18:n etuna on sen pitempi puoliintumisaika, joka mahdollistaa monivaiheisemman synteessin sekä kuljetuksen paikasta toiseen. Fluori-18-leimattuja CB1-merkkiaineita ovat esimerkiksi [¹⁸F]MK-9470 (*N*-[2-(3-syanofenyyli)-3-(4-(2-[¹⁸F]fluorietoksi)fenyyli)-1-metyylipropyyli]-2-(5-metyyli-2-pyridiloksi)-2-metyylipropaninamidi)⁵⁵, [¹⁸F]PipISB *N*-(4-fluoribentsyyli)-4-[3-(piperidin-1-yyli)indoli-1-sulfonyyli]bentsamidi⁵⁶, [¹⁸F]FMPEP ((3*R*,5*R*)-5-(3-([¹⁸F]fluorimetoksi)fenyyli)-3-(((*R*)-1-fenyylietyyli)amino)-

1-(4-(trifluorimetyyli)fenyylipyrrolidin-2-oni)⁵², [¹⁸F]FMPEP-*d*₂ ((3*R*,5*R*)-5-(3-([¹⁸F]fluorimetoksi-*d*₂)fenyyli)-3-(((*R*)-1-fenylylietyyli)amino)-1-(4-(trifluorimetyyli)fenyylipyrrolidin-2-oni)⁵² ja [¹⁸F]FPATPP ((3*R*,5*R*)-5-(3-[¹⁸F]fluorifenyyli)-3-(((*R*)-1-fenylylietyyli)amino)-1-(4-(trifluorimetyyli)fenyylipyrrolidin-2-oni)⁵⁷.

1.7.1 [¹⁸F]FMPEP ja [¹⁸F]FMPEP-*d*₂

Yasuno ym.⁵⁸ kehittivät vuonna 2008 lupaavan PET-kannabinoidimerkkiaineen, [¹¹C]MePPEP:n ((3*R*,5*R*)-5-(3-metoksifenyyli)-3-(((*R*)-1-fenylylietyyliamino)-1-(4-trifluorimetyylifenyyli)pyrrolidin-2-oni). [¹¹C]MePPEP on kohtalaisen lipofiilinen ja se sitoutuu spesifisesti CB1-reseptoreihin. Merkkiaineen rajoitteena oli kuitenkin hiili-11:n lyhyt puoliintumisaika (20,4 min).⁵⁹ [¹¹C]MePPEP:lle alettiin kehittää fluori-18-leimattuja analogeja. Fluori-18:n pitempi puoliintumisaika (109,8 min) antaa aikaa merkkiaineen valmistukselle, puhdistukselle ja kuljetukselle.

Donohue ym.⁵² kehittivät vuonna 2008 kaksi keskenään hyvin samankaltaista PET-kannabinoidimerkkiainetta; [¹⁸F]FMPEP ja [¹⁸F]FMPEP-*d*₂. Kummankin ¹⁸F-leimatun merkkiaineen lipofiilisyyden ja selektiivisyyden CB1-reseptoreille ovat vastaavat kuin [¹¹C]MePPEP:llä. [¹⁸F]FMPEP:n heikkoutena *in vivo* on fluorimetoksiryhmän defluorinaatio metabolian seurauksena. Defluorinaatio aiheuttaa vapautuneen ¹⁸F-fluoridin kertymisen luuhun, mikä häiritsee CB1-reseptorikertymän signaalia PET-kuvantamisessa. [¹⁸F]FMPEP-*d*₂:ssä fluorimetoksiryhmän vedyt on korvattu deuteriumilla, joka sitoutuu hiileen vetyä voimakkaammin. Tämän ansiosta [¹⁸F]FMPEP-*d*₂ on metabolisesti [¹⁸F]FMPEP:iä pysyvämpi merkkiaine ja siksi otettu kliniseen käyttöön.^{59,60}



Kuva 11. a) [¹⁸F]FMPEP b) [¹⁸F]FMPEP-*d*₂.⁵²

1.7.2 [¹⁸F]FPATPP

Lahdenpohja ym. valmistivat vuonna 2020 [¹⁸F]FMPEP-*d*₂:n kaltaisen merkkiaineen, [¹⁸F]FPATPP:n.⁵⁷ [¹⁸F]FPATPP:ssa radioaktiivinen fluoridi on suoraan kiinni aromaattisessa renkaassa.

Radioleimaus tehtiin ruteniumvälitteisesti. Lähtöaine ja CpRu(COD)Cl-kompleksi liuotettiin etanoliin. Seosta lämmitettiin 80 °C:ssa 30 min, minkä jälkeen lisättiin asetonitriiliin liuotettu 1,3-*bis*(2,6-diisopropyylifenyyl)imidatsoliumkloridi. Muodostunut reaktioseos A käytettiin puhdistamattomana radioleimaukseen.

[¹⁸F]fluoridin aktivointiin käytettiin sekä atseotrooppista tislausta että kiinteäfaasiuuttoa (SPE), ja vertailtiin menetelmien vaikutusta radiokemialliseen saantoon. Atseotrooppisessa tislauksessa [¹⁸F]F⁻ (aq) kuivattiin 120 °C:ssa käyttäen asetonitriiliä (MeCN), kaliumkarbonaattia (K₂CO₃) ja K₂₂₂:ta. Reaktioseos A lisättiin reaktioastiaan kuivan [¹⁸F]KF/K₂₂₂-kompleksin kanssa. Kiinteäfaasiuutossa anioninvaihtopatruuna esikäsiteltiin kaliumoksaalilla (K₂C₂O₄) ja vedellä. [¹⁸F]F⁻-vesiliuos vietiin patruunaan, patruuna kuivattiin asetonitriilillä, ja [¹⁸F]F⁻ eluoiitiin reaktioastiaan reaktioseoksen A avulla. Patruuna huuhdeltiin vielä DMSO:lla ja MeCN:llä. Atseotrooppisen tislauksen reaktioissa lämpötila oli 160 °C, ja kiinteäfaasiuutossa 100 °C, 130 °C ja 160 °C. Kummallakin menetelmällä reaktioaikaa vaihdeltiin 10–30 min välillä.

Reaktio käynnistyi nopeammin käyttäen atseotrooppista tislausta. Radiokemiallinen saanto (RCY) oli 36,3 ± 5,6 % (n = 3) jo 10 min reaktion jälkeen ja 47,9 ± 8,5 % (n = 3) 30 min reaktion jälkeen. Kiinteäfaasiuutolla RCY oli 30 min reaktion jälkeen 20,9 ± 0,3 % (n = 3) 130 °C lämpötilassa ja 47,4 ± 3,5 % (n = 3) 160 °C lämpötilassa. 100 °C lämpötilassa reaktiota ei tapahtunut lainkaan.

Atseotrooppisessa tislauksessa käytetyn K₂CO₃:n takia reaktio-olosuhteet olivat emäksisemmät kuin kiinteäfaasiuutossa. Lisätyn emäksen vaikutusta tutkittiin myös SPE-menetelmällä. [¹⁸F]F⁻:n eluoinnin jälkeen anioninvaihtopatruuna huuhdeltiin DMSO:hon liuotetulla K₂CO₃:lla. Emäskäsittelyn avulla RCY oli 61,8 ± 4,9 % (n = 3) 30 min reaktion jälkeen 160 °C lämpötilassa.

1.7.3 Työn tarkoitus ja taustaa

Työn tarkoituksena oli valmistaa CB1-reseptorille spesifinen radiomerkkiaine (3*R*,5*R*)-5-(3-[¹⁸F]fluorifenyyl)-3-[(*R*)-1-fenyylityyliamino]-1-(4-trifluorimetyylifenyyl)-pyrrolidin-2-oni ([¹⁸F]FPATPP) kuparivälitteisesti käyttäen tässä työssä valmistettua booriesterilähtöainetta, (3*R*,5*R*)-3-[(*R*)-1-fenyylityyliamino]-5-(3-(4,4,5,5-tetrametyyli-1,3,2-dioxaborolan-2-yyli)fenyyli)-1-(4-(trifluorimetyyli)fenyyli)pyrrolidin-2-onia.

[¹⁸F]FPATPP on aiemmin valmistettu ruteniumvälitteisesti. [¹⁸F]FPATPP:n valmistus ruteniumvälitteisesti vaatii kuitenkin korkean reaktiolämpötilan ja suhteellisen pitkän reaktioajan (160 °C, 30 min)²⁶, koska aryyl-rutenium-fluoridikompleksi on suhteellisen pysyvä.³² Ruteniumin sallittu päiväannos elimistössä on vain 10 µg, joten ruteniumvälitteisesti fluorattu radiomerkkiaine tulee puhdistaa perusteellisesti metallijäämistä.³¹

Kuparivälitteinen fluoraus on potentiaalinen vaihtoehto [¹⁸F]FPATPP:n valmistamiselle. Kuparin sallittu päiväannos on 340 µg, mikä on huomattavasti suurempi kuin ruteniumin.³¹ Kuparivälitteisesti fluorattu radiomerkkiaine ei siis välttämättä vaatisi yhtä perusteellista metallijäämien puhdistusprosessia. Kuparivälitteinen fluoraus voidaan tehdä nopeammin ja matalammassa lämpötilassa kuin ruteniumvälitteinen fluoraus.¹⁷ Kuparikompleksit eivät ole herkkiä kosteudelle, joten kuparivälitteinen fluoraus voidaan tehdä normaalissa ilmakehässä.³²

Kuparivälitteisten fluorausmenetelmien on kuitenkin havaittu olevan herkkiä emäksille.^{32,39,45} Tämä tulee ottaa huomioon fluorausmenetelmän kehityksessä. Perinteisesti emästä vaativa vaihe fluorausmenetelmissä on [¹⁸F]fluoridin kuivaamiseen käytettävä atseotrooppinen tislauk, jossa käytetään esimerkiksi kaliumkarbonaattia.¹⁷ Tässä työssä [¹⁸F]fluoridin kuivaamiseen käytetään kiinteäfaasiuuttoa.

2 Tutkimusosuus

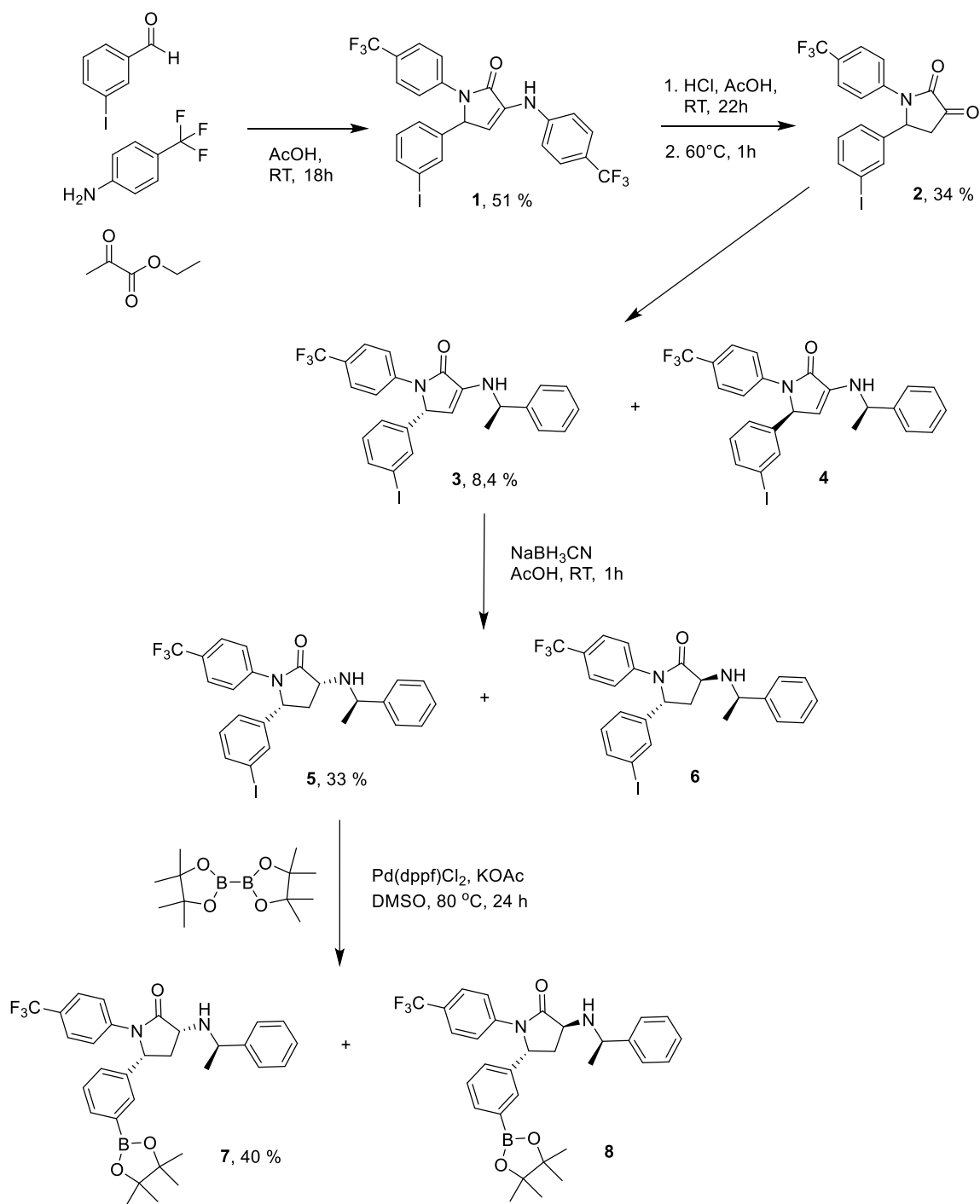
2.1 Materiaalit ja menetelmät

Työssä käytetyt reagenssit ja liuottimet olivat peräisin kaupallisista lähteistä. Lähtöaineen valmistus suoritettiin Valtakunnallisen PET-keskuksen tiloissa. Reaktioliuosten haihdutukset suoritettiin Büchi RE111 Rotavapor -pyöröhaihduksella. Reaktiotuotteiden oikeellisuus varmistettiin ohutkerroskromatografialla (TLC) käyttäen SigmaAldrichin Silica Gel 60 F254 -levyjä. Tuotteiden rakenne varmistettiin ydinmagneettisella resonanssispektroskopiolla (NMR). Kaikki NMR-näytteet mitattiin Turun yliopiston ja Åbo Akademin laitekeskuksessa TYBruker500 (500 MHz Bruker AVANCE-III NMR System) -laitteella.

[¹⁸F]fluoridi tuotettiin Valtakunnallisen PET-keskuksen CC-18/19 syklotronilla. Radioleimatut tuotteet analysoitiin Elite LaChrome -radioHPLC:llä, jossa on L-2130 VWR Hitachi -pumppu, L-2400 VWR Hitachi -UV-detektori, ORTEC NaI(Tl) -tuikeilmaisoin sekä SCA 925-SCINT-vahvistin. Analyyseissä käytetty kolonni oli Waters SymmetryShield RP18. Veden poistoon käytettiin Watersin kaupallisia anioninvaihtopatruunoita.

2.2 Lähtöaineen valmistus

Lähtöaine valmistettiin mukaillen Donohue ym.⁵² kehittämää menetelmää (kuva 12). Yhdiste 1 valmistettiin 3-jodibentsaldehydistä, 4-aminobentsotrifluoridista ja etyyliipyruvaatista etikkahapossa. Yhdiste 2 valmistettiin yhdisteen 1 happokatalysoidulla hydrolyysillä. Yhdiste 2 reagoi (*R*)-(+)-1-fenyylityyliamiinin kanssa muodostaen raseemisen seoksen, josta haluttu enantiomeeri 3 eroteltiin pylväskromatografisesti. Tuote pelkistettiin natriumsyanoboorihydridin avulla, jolloin saatiin yhdiste 5. Tälle tuotteelle tehtiin booriesteröinti palladiumkompleksin ja kaliumasetatin avulla, jolloin saatiin valmis leimauksen lähtöaine 7. Myös tuotteet 5 ja 7 eroteltiin seoksesta pylväskromatografisesti. Jokaisen välituotteen oikeellisuus varmistettiin NMR-spektroskopiolla ja enantiomeerit myös TLC:llä.



Kuva 12. Lähtöaineen valmistus.

5-(3-jodifenyyl)-1-(4-(trifluorimetyyli)fenyyli)-3-((4-(trifluorimetyylil)fenyyli)amino)-1,5-dihydro-2H-pyrrol-2-oni (1)

4-aminobentsotrifluoridi (4,34 ml, 34,56 mmol) lisättiin etikkahappoon (10,22 ml), johon oli liuotettuna 3-jodibentsaldehydi (2,67 g, 11,52 mmol). Liuoksen annettiin sekoittua

huoneenlämpötilassa 18 tuntia. Seos suodatettiin imusuodatuksella, jolloin saatiin yhdiste **1** (3,43 g, 50,9 %).

Yhdiste **1** $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO): δ 12,02 (s, 1H), δ 7,90 (d, 2H), δ 7,87 (d, 4H), δ 7,77 (s, 1H), δ 7,75 (d, 1H), δ 7,49 (d, 2H), δ 7,26 (d, 1H) δ 7,12 (t, 1H), δ 6,65 (d, 1H), δ 6,20 (d, 1H)

5-(3-jodifenyli)-1-(4-(trifluorimetyyli)fenyyli)pyrrolidiini-2,3-dioni (2)

Yhdiste **2** (3,43 g, 5,84 mmol) liuotettiin väkevään etikkahappoon (22,80 ml) ja konsentroituu HCl-liuokseen (26,00 ml). Liuoksen annettiin sekoittua huoneenlämmössä 22 tuntia. Heterogeenista seosta lämmitettiin 60 °C:ssa yhden tunnin ajan. Seos kaadettiin 300 ml:aan jäätä, sekoitettiin lusikalla ja annettiin saostua yhden tunnin ajan. Seos imusuodatettiin ja pestiin vedellä. Tässä kiinteässä tuotteessa oli vielä jäljellä lähtöainetta. Tuote liuotettiin 16 ml:aan väkevää etikkahappoa ja 16 ml:aan konsentroitua HCl-liuosta, ja annettiin sekoittua huoneenlämmössä 22 tuntia. Seos kaadettiin 500 ml:aan jäätä, sekoitettiin lusikalla ja annettiin saostua yhden tunnin ajan. Tuote imusuodatettiin ja pestiin vedellä, jolloin saatiin yhdiste **2** (0,90 g, 34,4 %).

Yhdiste **2** $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO): δ 7,91 (s, 1H), δ 7,83 (d, 2H), δ 7,76 (m, 3H), δ 7,60 (t, 1H), δ 7,45 (d, 1H), δ 6,38 (d, 1H), δ 4,03 (d, 1H), δ 3,99 (d, 1H)

(R)-5-(3-jodifenyli)-3-(((R)-1-fenylylietyyli)amino)-1-(4-(trifluorimetyyli)fenyyli)-1,5-dihydro-2H-pyrrol-2-oni (3) ja *(S)-5-(3-jodifenyli)-3-(((R)-1-fenylylietyyli)amino)-1-(4-(trifluorimetyyli)fenyyli)-1,5-dihydro-2H-pyrrol-2-oni (4)*

R-(+)-1-fenylylietyyliamiini (0,51 ml, 4,02 mmol) lisättiin dikloorimetaaniin (CH_2Cl_2 , 5,13 ml), johon oli liuotettuna yhdiste **2** (0,90 g, 2,01 mmol). Liuoksen annettiin sekoittua huoneenlämmössä 18 tuntia. Liuoksesta haihdutettiin osa dikloorimetaanista pois pyöröhaihduttimella, minkä jälkeen liuos pipetoitiin silikapylväeseen. Raakatuote puhdistettiin pylväskromatografisesti käyttäen ajoliuoksena 5–20 % EtOAc/heksaani-liuosta. Tuotteiden eluotumista seurattiin TLC:llä käyttäen ajoliuoksena 10 % EtOAc/heksaani-liuosta. Valkoinen isomeeri **4** eluotui pylvästä ensimmäisenä, ja haluttu keltainen isomeeri **3** eluotui toisena (31 mg, 8,4 %). Ajoliuos haihdutettiin tuotteesta pyöröhaihduttimella.

Yhdiste **3** ¹H-NMR (500 MHz, DMSO): δ 7,80 (d, 2H), δ 7,67 (d, 2H), δ 7,48 (d, 1H), δ 7,40 (s, 1H), δ 7,37 (d, 2H), δ 7,29 (t, 2H), δ 7,18 (t, 1H), δ 7,02 (d, 1H), δ 6,97 (t, 1H), δ 5,93 (d, 1H), δ 5,86 (d, 1H), δ 5,18 (d, 1H), δ 4,36 (m, 1H), δ 1,47 (d, 3H)

(3R,5R)-5-(3-jodifenyli)-3-(((R)-1-fenylietyyli)amino)-1-(4-(trifluorimetyyli)fenyyli)pyrrolidin-2-oni (**5**) ja *(3S,5R)-5-(3-jodifenyli)-3-(R)-1-fenylietyyliamino)-1-(4-(trifluorimetyyli)fenyyli)pyrrolidin-2-oni* (**6**)

Natriumsyanoboorihydridi (86,4 mg, 1,38 mmol) lisättiin väkevään etikkahappoon (3,5 ml), johon oli liuotettuna yhdiste **3** (31,0 mg, 0,56 mmol). Liuoksen annettiin sekoittua yhden tunnin ajan, minkä jälkeen liuotin haihdutettiin alipaineessa. Tuote liuotettiin 30 ml etyyliasetaattiin, pestiin 30 ml kylläisellä NaHCO₃-liuksella, kahdesti 30 ml:lla vettä ja 30 ml kylläisellä NaCl-liuksella. Orgaaninen faasi kuivattiin Na₂SO₄:lla, minkä jälkeen Na₂SO₄-sakka suodatettiin pois. Tuotteesta haihdutettiin suurin osa liuottimesta pois pyöröhaihduttimella. Tuote puhdistettiin silikapylväskromatografisesti käyttäen ajoliuoksena 5–20 % EtOAc/tolueeni-liuosta. Tuotteen eluoitumista seurattiin TLC:llä käyttäen ajoliuoksena 10 % EtOAc/tolueeni-liuosta. Enantiomeerit eivät erottuneet toisistaan, mutta synteesiä jatkettiin enantiomeerien **5** ja **6** seoksella (102,2 mg, 32,9 %) joka oli ajoliuoksen haihduttamisen jälkeen valkoista jauhetta.

Yhdisteet **5** ja **6** ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 7,69 (s, 1H), δ 7,62 (d, 2H), δ 7,54 (d, 3H), δ 7,38 (d, 2H) δ 7,32 (t, 2H) δ 7,27 (d, 1H), δ 7,23 (t, 1H), δ 7,06 (t, 1H), δ 5,23 (m, 1H), δ 4,37 (m, 1H), δ 3,45 (t, 2H), δ 2,48 (m, 1H), δ 1,31 (d, 3H)

(3R,5R)-3-(((R)-1-fenylietyyli)amino)-5-(3-(4,4,5,5-tetrametyyli-1,3,2-dioksaborolan-2-yyli)fenyyli)-1-(4-(trifluorimetyyli)fenyyli)pyrrolidin-2-oni (**7**) ja *(3S,5R)-3-((R)-1-fenylietyyliamino)-5-(3-(4,4,5,5-tetrametyyli-1,3,2-dioksaborolan-2-yyli)fenyyli)-1-(4-(trifluorimetyyli)fenyyli)pyrrolidin-2-oni* (**8**)

Enantiomeerien **5** ja **6** seos (102,2 mg, 0,18 mmol), Pd(dppf)Cl₂ (15,2 mg, 0,02 mmol), bis(pinakol)diboraani (93,9 mg, 0,37 mmol) ja kaliumasetaatti (54,5 mg, 0,55 mmol) liuotettiin kuivaan tolueeniin (5 ml). Liuoksen annettiin sekoittua inertissä ilmakehässä 80 °C lämpötilassa 24 tuntia.

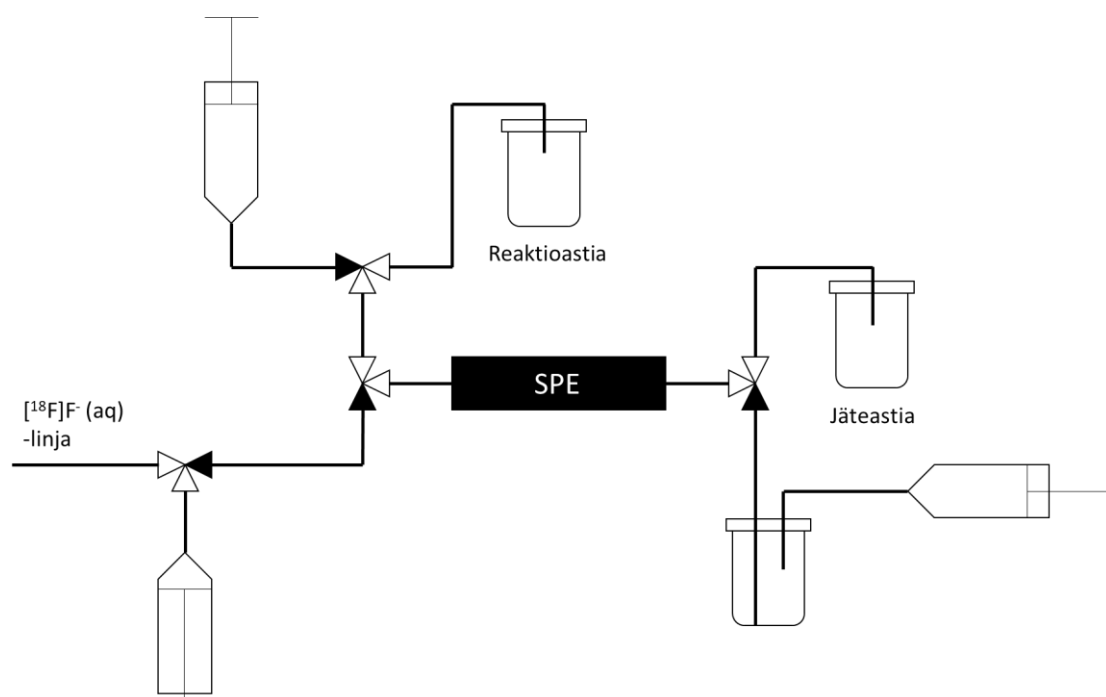
TLC-ajosta huomattiin, että lähtöainetta oli vielä paljon jäljellä. Liuokseen lisättiin 52,2 mg bis(pinakol)diboraania ja annettiin sekoittua uudestaan inertissä ilmakehässä 80 °C lämpötilassa 24 tuntia. Tuote puhdistettiin pylväskromatografisesti käyttäen ajoliuoksena

5–20 % EtOAc/tolueeni-liuosta. Tuotteen eluotumista seurattiin TLC:llä käyttäen ajoliuoksena 20 % EtOAc/tolueeni-liuosta. Haluttu isomeeri **7** eluotui pylväästä toisena (46,8 mg, 40,0 %). Ajoliuos haihdutettiin tuotteesta pyöröhaihduttimella.

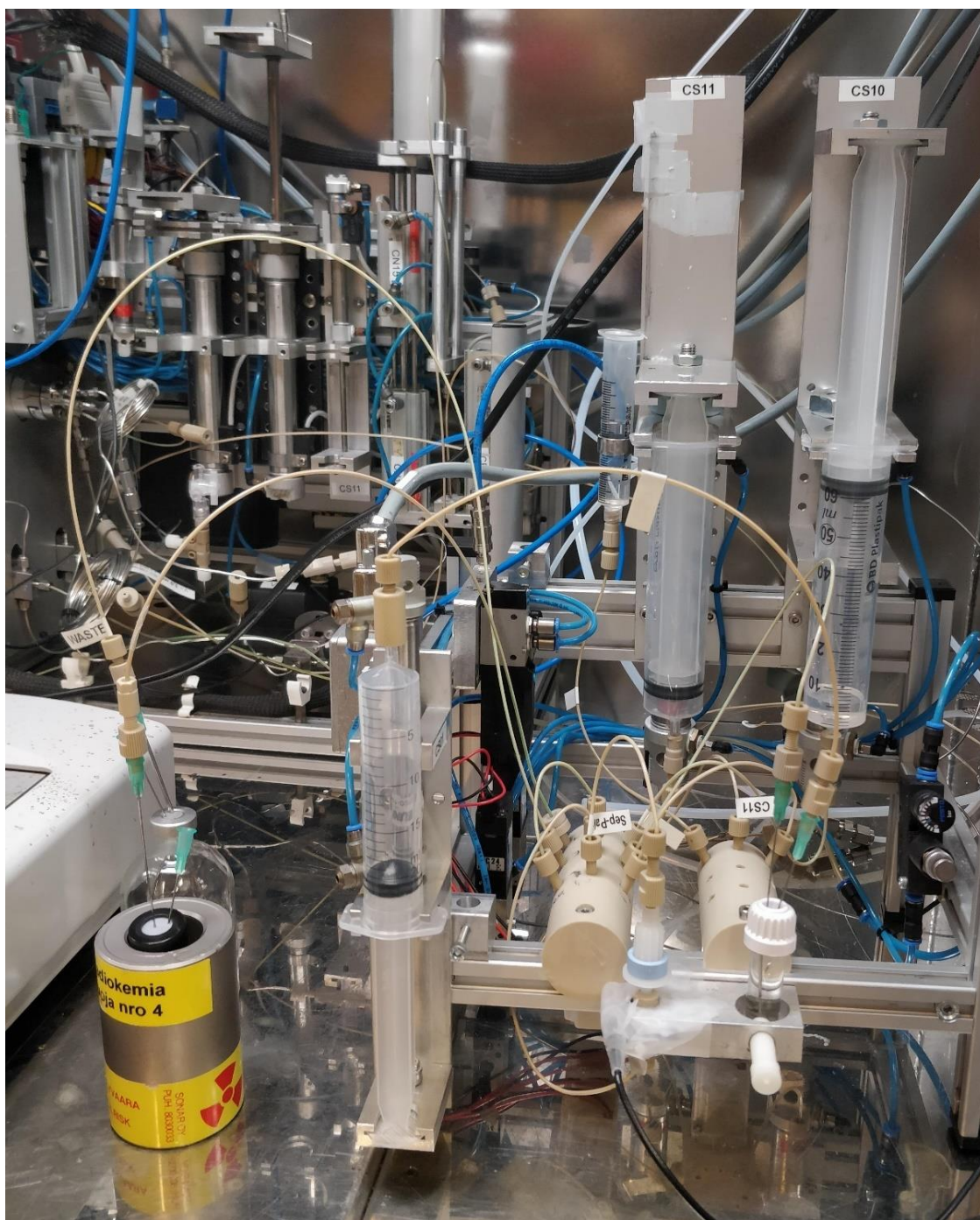
Yhdiste **7** $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): δ 7,94 (s, 1H), δ 7,60 (d, 2H), δ 7,58 (s, 1H), δ 7,54 (d, 2H), δ 7,48 (d, 1H), δ 7,38 (d, 2H), δ 7,34 (d, 1H), δ 7,31 (t, 2H), δ 7,27 (t, 1H), δ 7,22 (t, 1H), δ 5,30 (m, 1H), δ 4,37 (m, 1H), δ 3,45 (m, 1H), δ 2,51 (m, 1H), δ 2,44 (m, 1H), δ 1,32 (d, 3H), δ 1,27 (d, 12H)

2.3 Fluoridin tuotanto

^{18}F fluoridi tuotettiin valtakunnallisen PET-keskuksen CC-18/19 syklotronilla säteilyttämällä ^{18}O -rikastettua vettä protoneilla ($^{18}\text{O}(\text{p,n})^{18}\text{F}$). Säteilytusaika oli 5–8 min. ^{18}F fluoridin aktiivisuus säteilytyksen loppuhetkellä oli noin 5 GBq. ^{18}F fluoridi siirrettiin automatisoidusti vesiliuoksena laboratorioon lyijysuojattuun kuumakemiakammioon, jossa radioleimaus tehtiin. Synteessissä käytettiin kosketusnäytöltä ohjattavaa laitteistoa (kuvat 13 ja 14).



Kuva 13. Radioleimauksessa käytetty synteesislaitteisto.

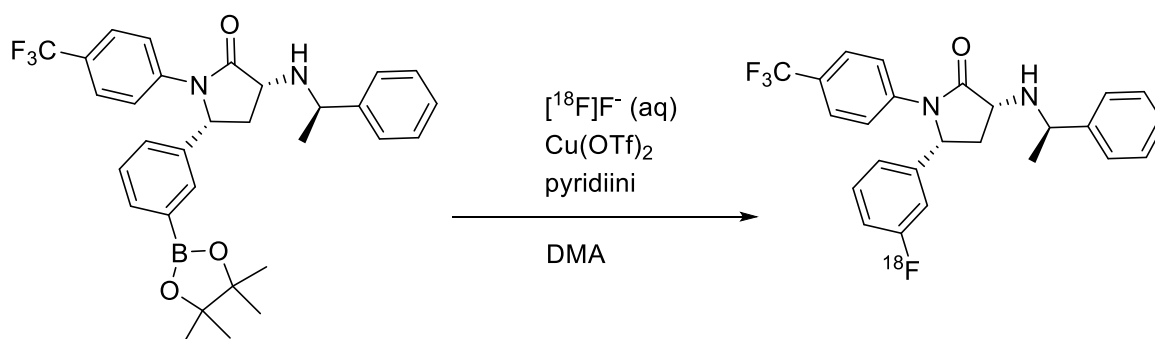


Kuva 14. Radioleimauksessa käytetty synteessilaitteisto kuumakemiakammiossa.

2.4 $[^{18}\text{F}]$ FPATPP:n valmistus

Tuotettu $[^{18}\text{F}]$ fluoridi tuotiin linjaa pitkin vesiliuoksena lyijykaapin tulo-ruiskuun, jossa oli valmiina 7 ml vettä. $^{18}\text{F}^-$ (aq) vedettiin 60 ml ruiskuun, josta se työnnettiin hitaasti anioninvaihtopatruunan läpi. Työssä käytetty anioninvaihtopatruuna oli C18 Plus Light SepPak. Patruuna esikäsiteltiin litiumtriflaattilla ja vedellä (10 ml 0,1 M LiOTf_2 (aq), 20 ml H_2O). $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ korvasi patruunassa triflaatti-ionit. Fluoridi jäi patruunaan ja vesi

huuhtoutui jäteastiaan. Patruunaa huuhdottiin vielä 5 ml:lla DMA:ta lopun veden poistamiseksi. [^{18}F]fluoridin irrottamiseen patruunasta käytettiin $\text{Cu}(\text{OTf})_2$:ta (17–18 mg) liuotettuna DMA:han (0,5 ml). Aktiivisuuden irtoamista seurattiin Geiger-Müller-putkien avulla. [^{18}F]fluoridi eluoitiin suoraan reaktioastiaan, jossa oli valmiina leimauksen lähtöaine (3–5 mg) ja pyridiini (50 μl) liuotettuna DMA:han (50 μl). Reaktioastia siirrettiin lämpöhauteeseen, jossa itse leimausreaktio tapahtui. [^{18}F]fluoridi sitoutui aryyliirenkaseen booriesteriryhmän tilalle kuparivälitteisellä nukleofiilisellä substituutioreaktiolla (kuva 15). Reaktioissa käytettiin 120 °C ja 140 °C lämpötiloja sekä 5 min ja 15 min reaktioaikoja. Tuote puhdistettiin semipreparatiivisella HPLC:llä käyttäen Luna C18 (10 μm , 7,8 x 300 mm) -kolonnia.



Kuva 15. [^{18}F]FPATPP:n kuparivälitteinen fluoraus.

2.5 Analysointimenetelmät

Tuotteen oikeellisuus ja radiokemiallinen puhtaus määritettiin radioHPLC:n avulla käyttäen Luna C5 (5 μm , 4,6 x 150 mm) -kolonnia. Virtausnopeus oli 8 ml/min ja UV-detektorin aallonpituus $\lambda = 254$ nm. Referenssiyhdisteenä käytettiin stabiilia ^{19}F -FPATPP:ia. Tuotefraktio kerättiin kolonnilta erilliseen pulloon, ja sen aktiivisuus mitattiin ionisaatiokammiossa. Myös kolonniin jäänyt aktiivisuus mitattiin eluoinnin jälkeen.

2.6 Tulosten tarkastelu

2.6.1 Lähtöaineen valmistus

Yhdisteen **1** synteesi onnistui, mutta reaktioseos muuttui suurelta osin kiinteäksi jo reaktion alkuvaiheessa. Tämän vuoksi liuos ei sekoittunut kunnolla, ja osa lähtöaineista

jäi reagoimatta. Yhdisteen **2** synteesissä tämä pyrittiin estämään lisäämällä liuokseen enemmän etikkahappoa ja suolahappoa, kuin mitä alun perin oli tarkoitus (10 ml enemmän kumpaakin). Liuos pysyikin nestemäisenä koko sekoituksen ajan, mutta tuotteessa oli silti vielä lähtöaineita jäljellä.

Yhdisteen **3** synteesi onnistui, mutta saanto jäi alhaiseksi. TLC-määrittelyn perusteella lähtöaineita oli isomeerien seoksessa vielä jäljellä, mutta nämä saatiin pylväskromatografian avulla eroteltua pois.

Pylväskromatografian ajoliuoksissa aikaisemmin käytetty heksaani loppui, joten se korvattiin toluenilla. Tuotteiden käyttäytymistä toluenissa testattiin ajamalla TLC:t vanhoista tuotteista, ja vaikutti siltä, että tolueni toimii lähes yhtä hyvin. Toluenin haihduttaminen lopputuotteesta oli kuitenkin heksaanin haihduttamista työläämpää. Myös NMR-analyysissä käytetty DMSO- d_6 loppui, joten lopuissa analyyseissä jouduttiin käyttämään joko kloroformia tai asetonia. Tämä vaikutti siirtymiin, ja tulosten vertaaminen alkuperäisen artikkelin tuloksiin vaikeutui.

Yhdisteiden **5** ja **6** synteesi onnistui, mutta isomeerit eivät erottuneet toisistaan pylväskromatografialla. Synteesiä jatkettiin isomeerien seoksella. TLC:n perusteella isomeerit **7** ja **8** erottuivat toisistaan pylväskromatografisessa puhdistuksessa, ja lopputuote oli haluttu isomeeri **7**.

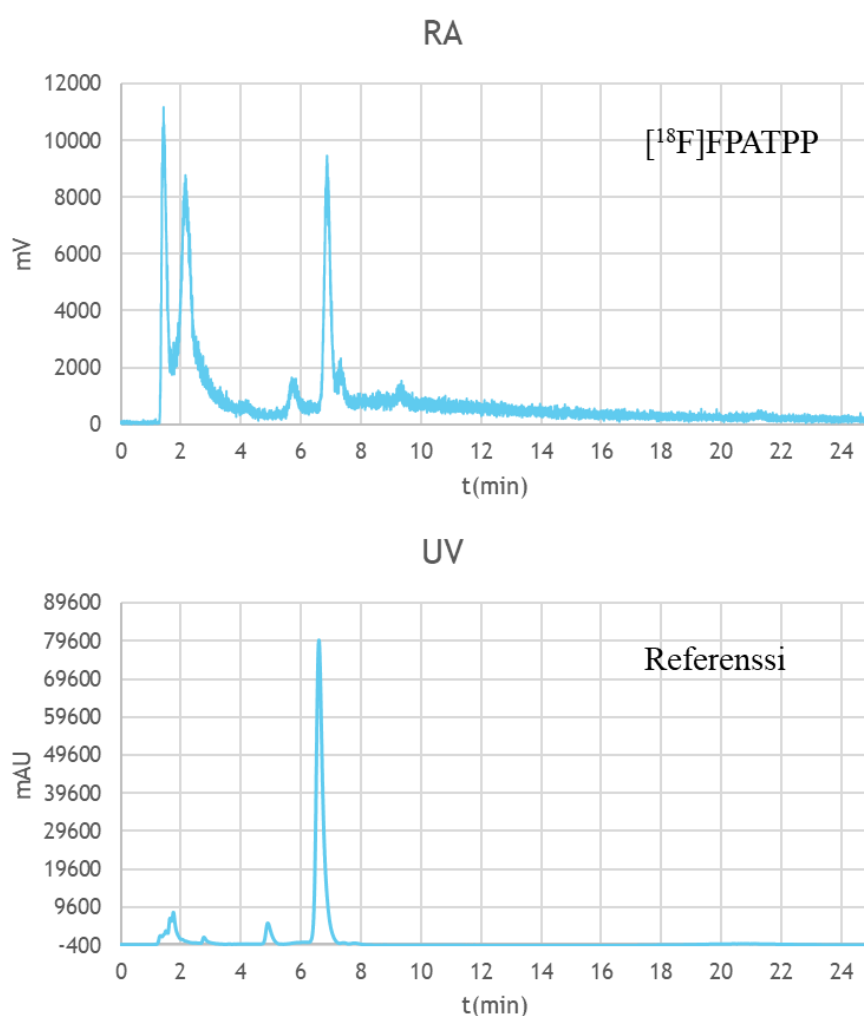
2.6.2 Radioleimaus

Radioleimauksen radioHPLC-mittauksiin perustuvat raakatuotteen radiokemialliset saannot ovat taulukossa 1. Reaktioajan pidentämisellä 120 °C reaktiolämpötilassa ei ollut merkittävää vaikutusta. Vaikka radiokemiallisen saannon keskiarvo 15 min reaktioajalla on hieman parempi kuin 5 min reaktioajalla, noin puolissa leimausreaktioista reaktioajan pidentäminen jopa heikensi radiokemiallista saantoa. 140 °C reaktiolämpötilassa radiokemiallinen saanto oli huonompi kuin 120 °C lämpötilassa. Reaktioajan pidentäminen 15 minuuttiin heikensi radiokemiallista saantoa entisestään. Semipreparatiivisella HPLC:llä puhdistetun tuotteen radiokemiallinen puhtaus (RCP) oli 84,9 %. Puhdistetun tuotteen radioHPLC-analyyseissä havaittiin vielä reagoimatonta [^{18}F]fluoridia. Puhdistetun tuotteen aktiivisuus ionisaatiokammioilla mitattuna oli 20,9 MBq. Eluutiotehokkuus anioninvaihtopatruunasta oli $68,2 \pm 5,6$ % ($n = 10$).

Taulukko 2. Raakatuotteiden radioHPLC-mittauksiin perustuvat radiokemialliset saannot.

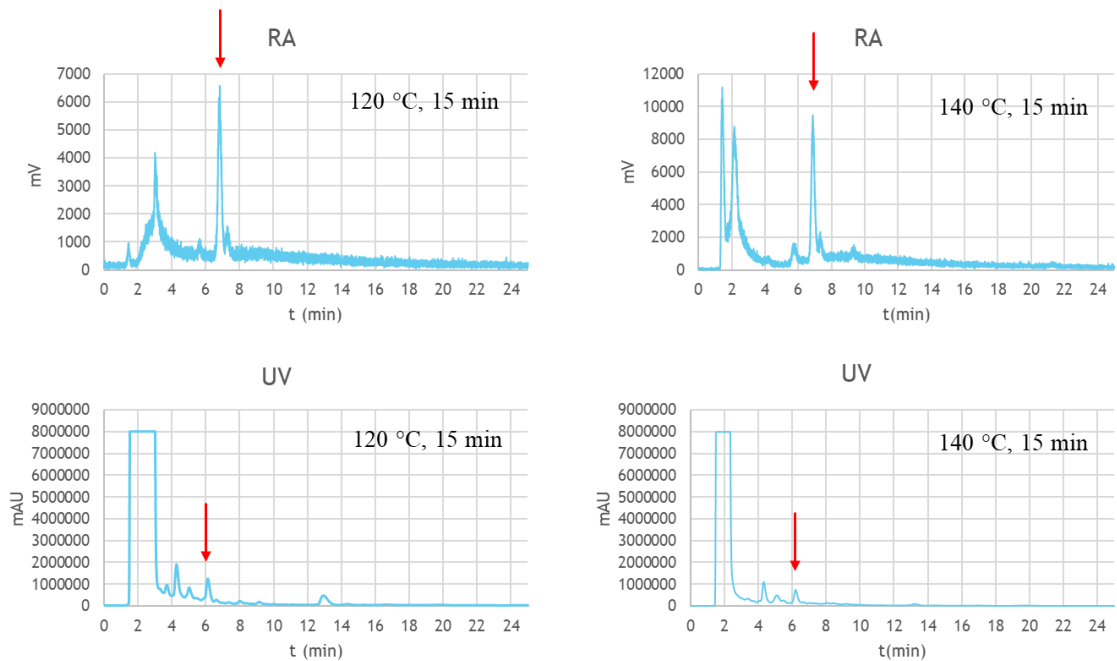
Lämpötila [°C]	Reaktioaika [min]	Raakatuotteen RCY [%]
120	5	20,8 ± 3,3 (n = 6)
	15	21,4 ± 4,2 (n = 7)
140	5	19,6 ± 2,6 (n = 3)
	15	16,0 ± 1,5 (n = 4)

Radioleimatun tuotteen ja referenssiyhdisteen UV-kromatogrammien perusteella onnistuttiin valmistamaan haluttu radiomerkkiaine [¹⁸F]FPATPP (kuva 16).



Kuva 16. [¹⁸F]FPATPP:n radioaktiivisuuskromatogrammi ja referenssiyhdisteen UV-kromatogrammit.

Raakatuotteen radioHPLC- ja UV-kromatogrammeista voidaan päätellä, että suuri osa radioaktiivisuudesta vastaa haluttua lopputuotetta (kuva 17). Noin kahden minuutin retentioajalla havaittava piikki on reagoimatonta [^{18}F]fluoridia. 140 °C lämpötilassa tehdyn leimausreaktion jälkeen lopputuotteen retentioajalla havaittava radioaktiivisuussignaali on pienempi suhteessa reagoimattomaan [^{18}F]fluoridiin kuin 120 °C:n lämpötilassa tehdyllä reaktiolla.



Kuva 17. [^{18}F]FPATPP:n analyttisen HPLC:n radioaktiivisuus- ja UV-kromatogrammit.

Johtopäätökset

Leimauksen lähtöaineena käytetty aryylibooriesteri valmistettiin onnistuneesti. Lähtöaineen valmistuksessa oli kuitenkin haasteena tuotteen eri enantiomeerien erottaminen toisistaan. Pylväskromatografisella erotuksella toivotun enantiomeerin saanto jäi useassa välituotteen puhdistusvaiheessa matalaksi tai enantiomeerejä ei saatu erotettua ollenkaan toisistaan. Välituotteisiin jäi TLC:n perusteella myös muita epäpuhtauksia. Nämä epäpuhtaudet olivat luultavasti reagoimattomia lähtöaineita tai reagensseja. Enantiomeerit erottuivat parhaiten toisistaan, kun eluenttina käytettiin heksaania.

Veden poistamiseen ^{18}F -fluoridi-vesiliuoksesta käytettiin kiinteäfaasiuuttoa. Eluutiotehokkuudessa oli parantamisen varaa. Eluutiotehokkuuteen vaikuttaa muun muassa patruunan esikäsitely, eluentti sekä se minkäläistä patruunaa käytetään. CuOTf_2 :n määrän vaikutusta eluutiotehokkuuteen voisi kokeilla. Fluoridin aktivoimiseen voisi käyttää myös atseotrooppista tislausta, ja vertailla kuivausmenetelmien toimivuutta.

$[^{18}\text{F}]$ FPATPP valmistettiin onnistuneesti pinakolijohdannaisesta aryylibooriesteristä. Radioleimatun lopputuotteen radiokemiallinen puhtaus ei täyttänyt radiomerkkiaineelle asetettua radiokemiallisen puhtauden vaatimusta, joka on yli 95 %. Semipreparatiivista HPLC-puhdistusta tulisi kehittää, jotta lopputuote täyttäisi merkkiaineelle asetetut puhtausvaatimukset. Semipreparatiivinen puhdistus tehtiin vain kerran leimauksen lähtöaineen vähäisen määrän takia.

Reaktiolämpötilan nostaminen $120\text{ }^\circ\text{C}$:sta $140\text{ }^\circ\text{C}$:een ei parantanut radiokemiallista saantoa. Kun reaktioaikaa pidennettiin 5 minuutista 15 minuuttiin $140\text{ }^\circ\text{C}$:ssa saanto oli vielä matalampi. Tästä voidaan päätellä, että lähtöaine ei kestä $140\text{ }^\circ\text{C}$ lämpötilaa. Paras saanto saatiin $120\text{ }^\circ\text{C}$ reaktiolämpötilassa 15 minuutin reaktioajalla.

Kuparivälitteinen fluoraus on potentiaalinen vaihtoehto ruteniumvälitteiselle fluoraukselle. $[^{18}\text{F}]$ FPATPP:n kuparivälitteinen fluoraus ei vaadi yhtä korkeaa lämpötilaa eikä yhtä pitkää reaktioaikaa kuin ruteniumvälitteinen fluoraus.⁵⁷ Kuparivälitteistä fluorausmenetelmää täytyy kuitenkin edelleen kehittää radiokemiallisen saannon ja -puhtauden sekä molaarisen aktiivisuuden parantamiseksi. Vaikka kuparin sallittu päiväannos elimistössä on suurempi kuin ruteniumin, täytyy kuparijäämät määrittää ja lopputuotteen puhdistusprosessia kehittää kuparijäämien minimoimiseksi.

Viiteluettelo

- (1) Tai, Y. F.; Piccini, P. Applications of Positron Emission Tomography (PET) in Neurology. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*. BMJ Publishing Group 2004, pp 669–676. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2003.028175>.
- (2) Li, Z.; Conti, P. S. Radiopharmaceutical Chemistry for Positron Emission Tomography. *Advanced Drug Delivery Reviews*. August 30, 2010, pp 1031–1051. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2010.09.007>.
- (3) Gillis, E. P.; Eastman, K. J.; Hill, M. D.; Donnelly, D. J.; Meanwell, N. A. Applications of Fluorine in Medicinal Chemistry. *J Med Chem* **2015**, 58 (21), 8315–8359. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00258>.
- (4) Böhm, H. J.; Banner, D.; Bendels, S.; Kansy, M.; Kuhn, B.; Müller, K.; Obst-Sander, U.; Stahl, M. Fluorine in Medicinal Chemistry. *ChemBioChem*. May 3, 2004, pp 637–643. <https://doi.org/10.1002/cbic.200301023>.
- (5) Shah, P.; Westwell, A. D. The Role of Fluorine in Medicinal Chemistry. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. Taylor and Francis Ltd. 2007, pp 527–540. <https://doi.org/10.1080/14756360701425014>.
- (6) Coenen, H. H. Fluorine-18 Labeling Methods: Features and Possibilities of Basic Reactions. *Ernst Schering Res Found Workshop* **2007**, No. 62, 15–50. https://doi.org/10.1007/978-3-540-49527-7_2.
- (7) Shah, P.; Westwell, A. D. The Role of Fluorine in Medicinal Chemistry. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. Taylor and Francis Ltd. 2007, pp 527–540. <https://doi.org/10.1080/14756360701425014>.
- (8) Huang, Y.-Y. An Overview of PET Radiopharmaceuticals in Clinical Use: Regulatory, Quality and Pharmacopeia Monographs of the United States and Europe. In *Nuclear Medicine Physics*; IntechOpen, 2019. <https://doi.org/10.5772/intechopen.79227>.
- (9) Conti, M.; Eriksson, L. Physics of Pure and Non-Pure Positron Emitters for PET: A Review and a Discussion. *EJNMMI Physics*. Springer International Publishing December 1, 2016. <https://doi.org/10.1186/s40658-016-0144-5>.
- (10) Lasne, M.-C.; Perrio, C.; Rouden, J.; Barré, L.; Roeda, D.; Dolle, F.; Crouzel, C. Chemistry of B⁺-Emitting Compounds Based on Fluorine-18. **2002**.
- (11) Blessing, G.; Coenen, H. H.; Franken, K.; Qaim, S. M. Production of [¹⁸F]F₂, H¹⁸F and ¹⁸Faq- Using the ²⁰Ne(d, α)¹⁸F Process. *International Journal of Radiation Applications and Instrumentation. Part* **1986**, 37 (11), 1135–1139. [https://doi.org/10.1016/0883-2889\(86\)90139-5](https://doi.org/10.1016/0883-2889(86)90139-5).

- (12) Chirakal, R.; Adams, R. M.; Firna, G.; Schrobilgen, G. J.; Coates, G.; Garnett, E. S. Electrophilic ^{18}F from a Siemens 11 MeV Proton-Only Cyclotron. *Nucl Med Biol* **1995**, *22* (1), 111–116. [https://doi.org/10.1016/0969-8051\(94\)E0064-P](https://doi.org/10.1016/0969-8051(94)E0064-P).
- (13) Bergman, J.; Solin, O. Fluorine-18-Labeled Fluorine Gas for Synthesis of Tracer Molecules. *Nucl Med Biol* **1997**, *24* (7), 677–683. [https://doi.org/10.1016/S0969-8051\(97\)00078-4](https://doi.org/10.1016/S0969-8051(97)00078-4).
- (14) Solin, O.; Bergman, J.; Haaparanta, M.; Reissell, A. Production of ^{18}F from Water Targets. Specific Radioactivity and Anionic Contaminants. *International Journal of Radiation Applications and Instrumentation. Part* **1988**, *39* (10), 1065–1071. [https://doi.org/10.1016/0883-2889\(88\)90142-6](https://doi.org/10.1016/0883-2889(88)90142-6).
- (15) Füchtner, F.; Preusche, S.; Mäding, P.; Steinbach, J. Factors Affecting the Specific Activity of [^{18}F]Fluoride from a [^{18}O]Water Target. *Nuklearmedizin* **2008**, *47* (3).
- (16) Cai, L.; Lu, S.; Pike, V. W. Chemistry with [^{18}F]Fluoride Ion. *European Journal of Organic Chemistry*. June 2008, pp 2853–2873. <https://doi.org/10.1002/ejoc.200800114>.
- (17) Lahdenpohja, S. O.; Rajala, N. A.; Rajander, J.; Kirjavainen, A. K. Fast and Efficient Copper-Mediated ^{18}F -Fluorination of Arylstannanes, Aryl Boronic Acids, and Aryl Boronic Esters without Azeotropic Drying. *EJNMMI Radiopharm Chem* **2019**, *4* (1). <https://doi.org/10.1186/s41181-019-0079-y>.
- (18) Mossine, A. V.; Brooks, A. F.; Ichiishi, N.; Makaravage, K. J.; Sanford, M. S.; Scott, P. J. H. Development of Customized [^{18}F] Fluoride Elution Techniques for the Enhancement of Copper-Mediated Late-Stage Radiofluorination. *Sci Rep* **2017**, *7* (1). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-00110-1>.
- (19) Keller, T.; López-Picón, F. R.; Krzyczmonik, A.; Forsback, S.; Takkinen, J. S.; Rajander, J.; Teperi, S.; Dollé, F.; Rinne, J. O.; Haaparanta-Solin, M.; Solin, O. Comparison of High and Low Molar Activity TSPO Tracer [^{18}F]F-DPA in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* **2020**, *40* (5), 1012–1020. <https://doi.org/10.1177/0271678X19853117>.
- (20) Luurtsema, G.; Pichler, V.; Bongarzone, S.; Seimbille, Y.; Elsinga, P.; Gee, A.; Vercouillie, J. EANM Guideline for Harmonisation on Molar Activity or Specific Activity of Radiopharmaceuticals: Impact on Safety and Imaging Quality. *EJNMMI Radiopharm Chem* **2021**, *6* (1). <https://doi.org/10.1186/s41181-021-00149-6>.
- (21) Berridge, M. S.; Tewson, T. J. *Chemistry of Fluorine-18 Radiopharmaceuticals*; 1986; Vol. 37.
- (22) Jacobson, O.; Chen, X. *PET Designated Fluoride-18 Production and Chemistry*; 2010.
- (23) Namavari, M.; Satyamurthy, N.; Barrio, J. R. Synthesis of 6- ^{18}F Fluorodopamine, 6- ^{18}F Fluoro-m-Tyramine and 4- ^{18}F Fluoro-m-Tyramine. *Contract* **1995**, *36* (9), 825–833.

- (24) Coenen, H. H.; Moerlein, S. M. Regiospecific Aromatic Fluorodemetalation of Group IVb Metalloarenes Using Elemental Fluorine or Acetyl Hypofluorite. *J Fluor Chem* **1987**, *36*, 63–75.
- (25) Teare, H.; Robins, E. G.; Kirjavainen, A.; Forsback, S.; Sandford, G.; Solin, O.; Luthra, S. K.; Gouverneur, V. Radiosynthesis and Evaluation of [¹⁸F]Selectfluor Bis(Triflate). *Angewandte Chemie - International Edition* **2010**, *49* (38), 6821–6824. <https://doi.org/10.1002/anie.201002310>.
- (26) Beyzavi, M. H.; Mandal, D.; Streb, M. G.; Neumann, C. N.; D'Amato, E. M.; Chen, J.; Hooker, J. M.; Ritter, T. ¹⁸F-Deoxyfluorination of Phenols via Ru π -Complexes. *ACS Cent Sci* **2017**, *3* (9), 944–948. <https://doi.org/10.1021/acscentsci.7b00195>.
- (27) Ichiishi, N.; Canty, A. J.; Yates, B. F.; Sanford, M. S. Cu-Catalyzed Fluorination of Diaryliodonium Salts with KF. *Org Lett* **2013**, *15* (19), 5134–5137. <https://doi.org/10.1021/ol4025716>.
- (28) Lee, E.; Kamlet, A. S.; Powers, D. C.; Neumann, C. N.; Boursalian, G. B.; Furuya, T.; Choi, D. C.; Hooker, J. M.; Ritter, T. A Fluoride-Derived Electrophilic Late-Stage Fluorination Reagent for PET Imaging. *Science (1979)* **2011**, *334* (6056), 639–642. <https://doi.org/10.1126/science.1212625>.
- (29) Lee, E.; Hooker, J. M.; Ritter, T. Nickel-Mediated Oxidative Fluorination for PET with Aqueous [¹⁸F] Fluoride. *J Am Chem Soc* **2012**, *134* (42), 17456–17458. <https://doi.org/10.1021/ja3084797>.
- (30) Ye, Y.; Sanford, M. S. Mild Copper-Mediated Fluorination of Aryl Stannanes and Aryl Trifluoroborates. *J Am Chem Soc* **2013**, *135* (12), 4648–4651. <https://doi.org/10.1021/ja400300g>.
- (31) *Committee for Medicinal Products for Human Use ICH Guideline Q3D (R2) on Elemental Impurities*; 2022. <https://ich.org>.
- (32) Tredwell, M.; Preshlock, S. M.; Taylor, N. J.; Gruber, S.; Huiban, M.; Passchier, J.; Mercier, J.; Génicot, C.; Gouverneur, V. A General Copper-Mediated Nucleophilic ¹⁸F Fluorination of Arenes. *Angewandte Chemie - International Edition* **2014**, *53* (30), 7751–7755. <https://doi.org/10.1002/anie.201404436>.
- (33) Fier, P. S.; Hartwig, J. F. Copper-Mediated Fluorination of Aryl Iodides. *J Am Chem Soc* **2012**, *134* (26), 10795–10798. <https://doi.org/10.1021/ja304410x>.
- (34) Casitas, A.; Canta, M.; Solà, M.; Costas, M.; Ribas, X. Nucleophilic Aryl Fluorination and Aryl Halide Exchange Mediated by a CuI/CuIII Catalytic Cycle. *J Am Chem Soc* **2011**, *133* (48), 19386–19392. <https://doi.org/10.1021/ja2058567>.
- (35) Mu, X.; Zhang, H.; Chen, P.; Liu, G. Copper-Catalyzed Fluorination of 2-Pyridyl Aryl Bromides. *Chem Sci* **2014**, *5* (1), 275–280. <https://doi.org/10.1039/c3sc51876k>.

- (36) Chun, J. H.; Lu, S.; Lee, Y. S.; Pike, V. W. Fast and High-Yield Microreactor Syntheses of Ortho -Substituted [18F]Fluoroarenes from Reactions of [18F]Fluoride Ion with Diaryliodonium Salts. *Journal of Organic Chemistry* **2010**, *75* (10), 3332–3338. <https://doi.org/10.1021/jo100361d>.
- (37) Richarz, R.; Krapf, P.; Zarrad, F.; Urusova, E. A.; Neumaier, B.; Zlatopolskiy, B. D. Neither Azeotropic Drying, nor Base nor Other Additives: A Minimalist Approach to 18F-Labeling. *Org Biomol Chem* **2014**, *12* (40), 8094–8099. <https://doi.org/10.1039/c4ob01336k>.
- (38) Ichiishi, N.; Brooks, A. F.; Topczewski, J. J.; Rodnick, M. E.; Sanford, M. S.; Scott, P. J. H. Copper-Catalyzed [18F]Fluorination of (Mesityl)(Aryl)Iodonium Salts. *Org Lett* **2014**, *16* (12), 3224–3227.
- (39) Zlatopolskiy, B. D.; Zischler, J.; Krapf, P.; Zarrad, F.; Urusova, E. A.; Kordys, E.; Endepols, H.; Neumaier, B. Copper-Mediated Aromatic Radiofluorination Revisited: Efficient Production of PET Tracers on a Preparative Scale. *Chemistry - A European Journal* **2015**, *21* (15), 5972–5979. <https://doi.org/10.1002/chem.201405586>.
- (40) Zischler, J.; Krapf, P.; Richarz, R.; Zlatopolskiy, B. D.; Neumaier, B. Automated Synthesis of 4-[18F]Fluoroanisole, [18F]DAA1106 and 4-[18F]FPhe Using Cu-Mediated Radiofluorination under “Minimalist” Conditions. *Applied Radiation and Isotopes* **2016**, *115*, 133–137. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2016.04.030>.
- (41) Gamache, R. F.; Waldmann, C.; Murphy, J. M. Copper-Mediated Oxidative Fluorination of Aryl Stannanes with Fluoride. *Org Lett* **2016**, *18* (18), 4522–4525. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.6b02125>.
- (42) Makaravage, K. J.; Brooks, A. F.; Mossine, A. V.; Sanford, M. S.; Scott, P. J. H. Copper-Mediated Radiofluorination of Arylstannanes with [18F]KF. *Org Lett* **2016**, *18* (20), 5440–5443. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.6b02911>.
- (43) Fier, P. S.; Luo, J.; Hartwig, J. F. Copper-Mediated Fluorination of Arylboronate Esters. Identification of a Copper(III) Fluoride Complex. *J Am Chem Soc* **2013**, *135* (7), 2552–2559. <https://doi.org/10.1021/ja310909q>.
- (44) Ye, Y.; Schimler, S. D.; Hanley, P. S.; Sanford, M. S. Cu(OTf)₂-Mediated Fluorination of Aryltrifluoroborates with Potassium Fluoride. *J Am Chem Soc* **2013**, *135* (44), 16292–16295. <https://doi.org/10.1021/ja408607r>.
- (45) Mossine, A. V.; Brooks, A. F.; Makaravage, K. J.; Miller, J. M.; Ichiishi, N.; Sanford, M. S.; Scott, P. J. H. Synthesis of [18F]Arenes via the Copper-Mediated [18F]Fluorination of Boronic Acids. *Org Lett* **2015**, *17* (23), 5780–5783. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.5b02875>.

- (46) Miyashita, M.; Yoshikoshi, A.; Grieco, P. Pyridinium P-Toluenesulfonate. A Mild and Efficient Catalyst for the Tetrahydropyranylation of Alcohols. *American Chemical Society* **1977**.
- (47) Mossine, A. V.; Tanzey, S. S.; Brooks, A. F.; Makaravage, K. J.; Ichiishi, N.; Miller, J. M.; Henderson, B. D.; Skaddan, M. B.; Sanford, M. S.; Scott, P. J. H. One-Pot Synthesis of High Molar Activity 6-[18F]Fluoro-l-DOPA by Cu-Mediated Fluorination of a BPin Precursor. *Org Biomol Chem* **2019**, *17* (38), 8701–8705. <https://doi.org/10.1039/c9ob01758e>.
- (48) Mossine, A. V.; Tanzey, S. S.; Brooks, A. F.; Makaravage, K. J.; Ichiishi, N.; Miller, J. M.; Henderson, B. D.; Erhard, T.; Bruetting, C.; Skaddan, M. B.; Sanford, M. S.; Scott, P. J. H. Synthesis of High-Molar-Activity [18F]6-Fluoro-l-DOPA Suitable for Human Use via Cu-Mediated Fluorination of a BPin Precursor. *Nat Protoc* **2020**, *15* (5), 1742–1759. <https://doi.org/10.1038/s41596-020-0305-9>.
- (49) Antuganov, D.; Zykov, M.; Timofeeva, K.; Antuganova, Y.; Orlovskaya, V.; Krasikova, R. Effect of Pyridine Addition on the Efficiency of Copper-Mediated Radiofluorination of Aryl Pinacol Boronates. *ChemistrySelect* **2017**, *2* (26), 7909–7912. <https://doi.org/10.1002/slct.201701628>.
- (50) Howlett, A. C.; Barth, F.; Bonner, T. I.; Cabral, G.; Casellas, P.; Devane, W. A.; Felder, C. C.; Herkenham, M.; Mackie, K.; Martin, B. R.; Mechoulam, R.; Pertwee, R. G. *International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of Cannabinoid Receptors*. <http://pharmrev.aspetjournals.org>.
- (51) Willis, P. G.; Katoch-Rouse, R.; Horti, A. G. Regioselective F-18 Radiolabeling of AM694, a CB1 Cannabinoid Receptor Ligand. *J Labelled Comp Radiopharm* **2003**, *46* (9), 799–804. <https://doi.org/10.1002/jlcr.720>.
- (52) Donohue, S. R.; Krushinski, J. H.; Pike, V. W.; Chernet, E.; Phebus, L.; Chesterfield, A. K.; Felder, C. C.; Halldin, C.; Schaus, J. M. Synthesis, Ex Vivo Evaluation, and Radiolabeling of Potent 1,5-Diphenylpyrrolidin-2-One Cannabinoid Subtype-1 Receptor Ligands as Candidates for in Vivo Imaging. *J Med Chem* **2008**, *51* (18), 5833–5842. <https://doi.org/10.1021/jm800416m>.
- (53) Article, O. Reduced Cortical Cannabinoid 1 Receptor Messenger. *Brain* **2012**, *65* (7), 772–784.
- (54) Waterhouse, R. N. Determination of Lipophilicity and Its Use as a Predictor of Blood-Brain Barrier Penetration of Molecular Imaging Agents. *Mol Imaging Biol* **2003**, *5* (6), 376–389. <https://doi.org/10.1016/j.mibio.2003.09.014>.
- (55) Burns, H. D.; Van Laere, K.; Sanabria-Bohórquez, S.; Hamill, T. G.; Bormans, G.; Eng, W. S.; Gibson, R.; Ryan, C.; Connolly, B.; Patel, S.; Krause, S.; Vanko, A.; Van Hecken, A.; Dupont, P.; De Lepeleire, I.; Rothenberg, P.; Stoch, S. A.; Cote, J.; Hagmann, W. K.;

- Jewell, J. P.; Lin, L. S.; Liu, P.; Goulet, M. T.; Gottesdiener, K.; Wagner, J. A.; De Hoon, J.; Mortelmans, L.; Fong, T. M.; Hargreaves, R. J. [18F]MK-9470, a Positron Emission Tomography (PET) Tracer for in Vivo Human PET Brain Imaging of the Cannabinoid-1 Receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2007**, *104* (23), 9800–9805. <https://doi.org/10.1073/pnas.0703472104>.
- (56) Finnema, S. J.; Donohue, S. R.; Zoghbi, S. S.; Brown, A. K.; Gulyás, B.; Innis, R. B.; Halldin, C.; Pike, V. W. Evaluation of [11C]PipISB and [18F]PipISB in Monkey as Candidate Radioligands for Imaging Brain Cannabinoid Type-1 Receptors in Vivo. *Synapse* **2009**, *63* (1), 22–30. <https://doi.org/10.1002/syn.20578>.
- (57) Lahdenpohja, S.; Rajala, N. A.; Helin, J. S.; Haaparanta-Solin, M.; Solin, O.; López-Picón, F. R.; Kirjavainen, A. K. Ruthenium-Mediated 18F-Fluorination and Preclinical Evaluation of a New CB1 Receptor Imaging Agent [18F]FPATPP. *ACS Chem Neurosci* **2020**, *11* (13), 2009–2018. <https://doi.org/10.1021/acchemneuro.0c00313>.
- (58) Yasuno, F.; Brown, A. K.; Zoghbi, S. S.; Krushinski, J. H.; Chernet, E.; Tauscher, J.; Schaus, J. M.; Phebus, L. A.; Chesterfield, A. K.; Felder, C. C.; Gladding, R. L.; Hong, J.; Halldin, C.; Pike, V. W.; Innis, R. B. The PET Radioligand [11C]MePPEP Binds Reversibly and with High Specific Signal to Cannabinoid CB1 Receptors in Nonhuman Primate Brain. *Neuropsychopharmacology* **2008**, *33* (2), 259–269. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301402>.
- (59) Terry, G. E.; Hirvonen, J.; Liow, J. S.; Zoghbi, S. S.; Gladding, R.; Tauscher, J. T.; Schaus, J. M.; Phebus, L.; Felder, C. C.; Morse, C. L.; Donohue, S. R.; Pike, V. W.; Halldin, C.; Innis, R. B. Imaging and Quantitation of Cannabinoid CB1 Receptors in Human and Monkey Brains Using 18F-Labeled Inverse Agonist Radioligands. *Journal of Nuclear Medicine* **2010**, *51* (1), 112–120. <https://doi.org/10.2967/jnumed.109.067074>.
- (60) Lahdenpohja, S.; Keller, T.; Forsback, S.; Viljanen, T.; Kokkomäki, E.; Kivelä, R. V.; Bergman, J.; Solin, O.; Kirjavainen, A. K. Automated GMP Production and Long-Term Experience in Radiosynthesis of CB1 Tracer [18F]FMPEP-D2. *J Labelled Comp Radiopharm* **2020**, *63* (9), 408–418. <https://doi.org/10.1002/jlcr.3845>.