

Synthese ^{18}F -markierter PET-Tracer durch nukleophile Kupfer-vermittelte Radiofluorierung

Kurzzusammenfassung

Die Positronen-Emissions-Tomographie (PET) ermöglicht die *in vivo* Visualisierung von physiologischen und pathologischen Prozessen auf zellulärer oder molekularer Ebene und stellt damit ein wichtiges Instrument der diagnostischen Bildgebung dar. So gehen etwa viele neurologische und onkologische Erkrankungen mit Veränderungen in der Expression oder Aktivität von bestimmten Rezeptoren, Transportern oder Enzymen einher, welche sich im Rahmen von PET Untersuchungen darstellen und quantifizieren lassen. Dazu werden radioaktiv markierte Sonden (Tracer) verwendet, die selektiv mit einem molekularen Target wechselwirken und deren Verteilung sich mittels PET nicht-invasiv erfassen lässt. Aufgrund der nahezu idealen Zerfallseigenschaften in Bezug auf Halbwertszeit und Positronen-Energie wird zur Radiomarkierung bevorzugt auf das Radionuklid Fluor-18 zurückgegriffen. Um es in Biomoleküle einzuführen, können unterschiedliche Strategien verfolgt werden, wobei in jüngster Zeit vor allem Methoden für die Übergangsmetall-vermittelte Radiofluorierung zur Markierung von aromatischen Verbindungen an Popularität gewonnen haben. Sie ermöglichen die einfache Einführung von ^{18}F Fluorid in elektronenreiche, -arme und -neutrale Aromaten. So konnte beispielsweise mit der Kupfer-vermittelten Radiofluorierung unter Verwendung von Alkohol als Kosolvenz die Radiosynthese von vielen klinisch relevanten aber zuvor nur schwer zugänglichen PET-Tracern mit hoher Ausbeute erreicht werden.

Ziel dieser Arbeit war es, mittels Alkohol-unterstützter Cu-vermittelter Radiofluorierung ^{18}F -markierte PET-Tracer für unterschiedliche molekulare Targetstrukturen herzustellen und diese in präklinischen *in vitro* und *in vivo* Versuchen zu evaluieren. Als Targetstrukturen mit pathologischer Relevanz wurden der Glycintransporter 1 (GlyT1), das synaptische Vesikelglykoprotein 2A (SV2A) und der A_1 Adenosin-Rezeptor ($A_1\text{AR}$) ausgewählt. Für diese Targets wurden zunächst aromatische Leitstrukturen mit entsprechend hohen Affinitäten identifiziert und diese anschließend mittels Kupfer-vermittelter Radiofluorierung markiert.

Im ersten Teil der Arbeit sollte der selektive GlyT1 Inhibitor ALX5407 mit ^{18}F markiert und hinsichtlich seiner Eignung als PET-Tracer untersucht werden. ^{18}F ALX5407 konnte über die Kupfer-vermittelte Alkohol-verstärkte Radiofluorierung in einer radiochemischen Ausbeute (RCA) von $55 \pm 7\%$ hergestellt werden. Der experimentelle $\text{Log}D_{7.4}$ Wert des Tracers lag mit 2.2 im optimalen Bereich für eine Penetration der Bluthirnschranke (BHS) und Stabilitätsversuche mit Blutplasma ergaben keine

Hinweise auf eine Metabolisierung für mindestens 60 min. *In vitro* Autoradiographien an Rattenhirnschnitten zeigten zudem eine Akkumulation, die mit dem in früheren Arbeiten beschriebenen Expressionsmuster von GlyT1 übereinstimmte. In *in vivo* PET-Experimenten in gesunden Ratten mit [¹⁸F]ALX5407 alleine, [¹⁸F]ALX5407 und dem Pgp-Inhibitor Elacridar oder [¹⁸F]ALX5407 und nicht-radioaktivem ALX5407, konnte jedoch nur eine Akkumulation in peripheren Geweben ohne Aufnahme des Tracers im Gehirn nachgewiesen werden. Bei Verwendung des zugehörigen Methylesters [¹⁸F]ALX5406 als Prodrug ($\text{Log}D_{7.4} = 2.9$) zeigte sich eine hohe Hirnaufnahme, allerdings spiegelte die beobachtete regionale Verteilung nicht das in der Literatur beschriebene und in den Autoradiographien beobachtete GlyT1-Verteilungsmuster wider.

Im zweiten Teil der Arbeit lag der Schwerpunkt auf dem chiralen PET-Tracer [¹⁸F]MNI-1126, welches das Vesikelprotein SV2A adressiert und sich daher zur Visualisierung der synaptischen Integrität eignet. Da die Gewinnung des enantiomerenreinen Vorläufers komplex ist, wurde in dieser Arbeit eine neue Markierungsvorläufersynthese unter Verwendung eines chiralen Alkohol-modifizierten Chinidin-Derivats als Katalysator entwickelt. Dieses Verfahren lieferte den Trimethylstannyl-Vorläufer für die Kupfer-vermittelte Alkohol-unterstützte Radiofluorierung über 7 Stufen mit einer Gesamtausbeute von 8% und einem Enantiomerenüberschuss (*ee*) von 98%. Durch diese Methode konnte auf eine zusätzliche Enantiomerentrennung mittels chiraler HPLC verzichtet werden. Die Übertragung der Radiosynthese auf ein automatisiertes Synthesemodul ermöglichte die Produktion von [¹⁸F]MNI-1126 (in RCA von $26 \pm 6\%$) im präparativen Maßstab, sodass auch präklinische Studien durchgeführt werden konnten.

Im dritten Teil der Arbeit wurden schließlich radiofluorierte Partialagonisten für die Visualisierung der A₁AR-Rezeptordichte mittels PET hergestellt. Vier potentielle Radioliganden 2-Amino-4-(3-[¹⁸F]fluorphenyl)-6-[[6-methylpyridin-2-yl)methyl]thio]pyridin-3,5-dicarbonitril ([¹⁸F]FMPD), 2-Amino-4-(3-[¹⁸F]fluorphenyl)-6-[[5-methylpyridin-3-yl)methyl]thio]pyridin-3,5-dicarbonitril (*iso*-[¹⁸F]FMPD), 2-Amino-4-(3-(2-[¹⁸F]fluorethoxy)-6-[[6-methylpyridin-2-yl)methyl]thio]pyridin-3,5-dicarbonitril ([¹⁸F]FEMPD) und 2-Amino-4-(3-(2-[¹⁸F]fluorethoxy)-6-[[5-methylpyridin-3-yl)methyl]thio]pyridin-3,5-dicarbonitril (*iso*-[¹⁸F]FEMPD) mit einstellig nanomolaren Affinitäten ($K_i = 2.6\text{--}5.8$ nM) für den A₁AR und idealen $\text{Log}D_{7.4}$ -Werten (2.6–3.4) wurden dazu ausgewählt. Die Radiotracer konnten in moderaten bis guten RCA von 8–77% und ausreichenden molaren Aktivitäten von 3.5–61 GBq/μmol (am Ende der Synthese) über die Kupfer-vermittelte Alkohol-unterstützte ([¹⁸F]FMPD und *iso*-[¹⁸F]FMPD) oder eine klassische Radiofluorierung ([¹⁸F]FEMPD und *iso*-[¹⁸F]FEMPD) hergestellt werden. *In vitro* Autoradiographien an Rattenhirnschnitten zeigten eine relativ homogene Verteilung des Radioliganden über das gesamte Gehirn und die für Ratten typische, verstärkte Anreicherung im Kleinhirn. Die spezifische Bindung wurde in Verdrängungsexperimenten mit dem A₁AR-Antagonisten DPCPX und dem A₁AR-Agonisten NECA ermittelt. Die höchste spezifische Bindung (40% bei

Verdrängung mit DPCPX) wurde für [¹⁸F]FEMPD beobachtet, woraufhin dieser Radioligand mittels *in vivo* PET-Messungen an einer gesunden Ratte evaluiert wurde. Dabei konnte neben einer effektiven Penetration der BHS ein Verteilungsmuster des Tracers beobachtet werden, welches mit der bekannten A₁AR-Verteilung im Gehirn übereinstimmt. Zudem war [¹⁸F]FEMPD über eine Stunde stabil, so dass sich dieser neue Radioligand aus der Klasse der Partialagonisten zur Visualisierung der A₁AR-Verteilung für weitere Studien eignen sollte.